

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

**MÉMOIRE PRÉSENTÉ À
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES**

**COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT**

**PAR
CARL MARTIN**

**MÉCANISMES DE CONTRÔLE ET IMPLICATIONS ÉCOLOGIQUES DE LA
FIXATION ET DE LA LIBÉRATION DE CARBONE PAR LE PHYTOPLANCTON EN
RIVIÈRE TEMPÉRÉE**

JANVIER 2005

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

COMITÉ D'ÉVALUATION

Superviseur :

Jean-Jacques Frenette (Ph.D.)
Professeur, Département de Chimie-Biologie
Université du Québec à Trois-Rivières
Trois-Rivières, Canada

Autres membres du comité d'évaluation :

Michel Gosselin (Ph.D.)
Professeur, Institut des Sciences de la mer
Université du Québec à Rimouski
Rimouski, Canada

Andrea Bertolo (Ph.D.)
Chercheur post-doctoral, GRIL
Université du Québec à Trois-Rivières
Trois-Rivières, Canada

RÉSUMÉ

Afin de mieux comprendre les mécanismes de contrôle et l'implication écologique de la fixation (P_{POC}) et de la libération (P_{EOC}) de carbone par le phytoplancton en milieu lotique, un ensemble de 15 rivières tempérées présentant des concentrations en éléments nutritifs et en carbone organique dissous (DOC) indépendantes et très hétérogènes a été échantillonné à l'été 2003.

Dans ces rivières, les biomasses de phytoplancton sont corrélées aux concentrations en éléments nutritifs. Toutefois, ces concentrations en éléments nutritifs ne permettent pas d'expliquer les variations de P_{POC} et P_{EOC} entre les rivières, ce qui questionne l'application des relations classiques liant la concentration en phosphore totale à aux biomasse et productivité du phytoplancton en milieu lotique. P_{POC} et P_{EOC} ne sont pas corrélés aux concentrations en DOC, mais tous deux présentent une tendance à diminuer avec la concentration de matière organique dissoute chromophorique (CDOM), la fraction colorée du DOC. Cette relation peut être attribuée aux propriétés d'atténuation de la lumière du CDOM.

Le rôle de la lumière dans la fixation et la libération de carbone par le phytoplancton fut étudié à l'aide de courbes photosynthèse-irradiance. Ces expériences ont révélé une augmentation non-linéaire de P_{EOC} avec un accroissement de l'irradiance, une dynamique similaire à celle présentée par P_{POC} . Lorsque nous regroupons tous les échantillons, une forte relation linéaire (pente de 0,31) est observée entre P_{POC} et P_{EOC} , démontrant ainsi que la proportion de carbone libéré est supérieure à faible irradiance et à faible productivité. En moyenne, la proportion de carbone libéré (PER) représente 11,6% de la fixation totale de carbone. Les communautés phytoplanctoniques acclimatées à de faibles irradiances libèrent de plus grandes quantités de carbone, mais cette relation est largement attribuable aux différences de biomasse entre les sites. Ce résultat suggère que la libération de carbone par le phytoplancton est le résultat d'une diffusion de produits photosynthétiques à l'extérieur des cellules plutôt qu'un processus actif pour contrer un découplage entre la fixation de carbone et la croissance cellulaire.

Les rivières possédant de fortes biomasses de phytoplancton et de forts taux de fixation et de libération de carbone sont caractérisées par un DOC contenant de plus grandes proportions de molécules autochtones de faible aromaticité et poids moléculaire. Ces rivières supportent de plus grandes productions bactériennes (BP), qui ne sont pas corrélées aux concentrations en éléments nutritifs. Lorsque pondérée par unité de DOC, les variations de BP suggèrent une plus grande biodisponibilité du DOC dans les rivières à plus grande proportion de DOC autochtone. Ainsi, la BP dans des rivières de différents statuts trophiques semble contrôlée par la disponibilité de substrats de bonne qualité alimentaire associés à la production primaire.

AVANT-PROPOS

i) Conformité du manuscrit

Conformément aux articles D45-46-47 du règlement des études de cycles supérieurs de l'Université du Québec à Trois-Rivières, il est possible de présenter les résultats obtenus dans le cadre du programme de 2^e cycle en Sciences de l'Environnement sous forme d'article scientifique.

Le chapitre I de ce mémoire est composé d'un résumé substantiel du travail, incluant une introduction, la problématique de l'étude, les objectifs, les résultats, les conclusions et une liste de références bibliographiques.

Le chapitre II est constitué d'un article scientifique ayant pour titre «*Control and ecological significance of carbon fixation and extracellular organic carbon release by phytoplankton in temperate rivers*» et dont les auteurs sont Carl Martin et Jean-Jacques Frenette. Le manuscrit sera soumis dans les prochaines semaines au périodique *Freshwater Biology* pour fin de publication. Les instructions relatives à la publication d'articles scientifiques dans ce journal peuvent être trouvées à l'annexe I.

ii) Remerciements

Il m'importe de remercier dès maintenant mon directeur de recherche, Jean-Jacques Frenette, sans qui tout ce travail aurait été impossible. Alors que je n'étais encore qu'au baccalauréat, il m'a tout de suite ouvert sa porte et initié aux rudiments du métier. Tout au long de mon cheminement, il a su me guider dans mes réflexions, m'encourager et me supporter lors des moments difficiles et m'apporter toute la liberté dont j'avais besoin pour apprendre de mes erreurs. Plus que tout, il a su me transmettre une valeur qui lui est chère et pour laquelle je lui suis plus que reconnaissant : sa passion pour son métier. En voyant son emploi du temps, toute personne sensée doit inévitablement se dire que jamais elle ne voudrait avoir ce rythme de vie. Toutefois, constater à quel point il aime son métier et voir son visage s'illuminer à chacune des réussites de ses étudiants est bien plus qu'il n'en faut pour nous convaincre que cette « vie de fou, faite pour des fous » vaut bien la peine d'être vécue. Jean-Jacques, c'est en tant qu'ami bien plus qu'en tant qu'étudiant que je te remercie pour tout ce que tu as fait pour moi. Je t'en dois une, probablement même deux!

Évidemment, la rédaction d'un mémoire implique énormément de travail personnel. Toutefois, c'est bien peu quand on considère que cette « brique » de papier repose essentiellement sur le travail de collègues et amis durant les périodes d'échantillonnage. Ainsi, je m'en voudrais de passer sous le silence l'aide si précieuse de Sylvain Thélème à l'été 2002, Jean-François Lapierre à l'été 2003 et Pascal Lavallée lors de ces deux années. Sans les efforts et la qualité du travail de ces trois personnes, toutes les expériences réalisées auraient été impossibles. Outre leur bon boulot, il va également de soi de souligner leur patience et compréhension d'avoir travailler avec un « boss » parfois fatigué, parfois à bout de nerfs, et souvent les deux. Chapeau!

Vient ensuite le temps de souligner la contribution d'une autre personne qui m'est chère. Que ce soit pour de multiples conseils et encouragements aux moments opportuns, pour ses nombreuses heures de lecture, correction et critique de mes travaux, pour de bonnes discussions théoriques ou tout simplement pour m'avoir enduré pendant tout ce

temps, je remercie sincèrement Christine Barnard. Je souhaite que nos échanges au laboratoire furent aussi enrichissants pour toi qu'ils le furent pour moi.

De la même façon, je tiens aussi à remercier mes autres collègues du laboratoire, soit Didier M'Radamy, Kim Huggins, Geneviève Trudel, Daniel Pouliot, Anda Stuparu, Marianne Lefebvre, Dominique Deshaies et Marie-Andrée Fallu pour tout ce qu'ils ont su m'apporter de bon pendant les périodes où nous nous sommes côtoyés. Comme tout bon collègue, ils ont su me donner de judicieux conseils aux moments où j'en avais le plus besoin.

Je désire également remercier les membres du comité d'évaluation de ce mémoire, soit les Drs Michel Gosselin et Andrea Bertolo, pour leurs commentaires et suggestions afin d'améliorer la qualité de ce document et le temps consacré à la correction.

Un merci tout spécial à Karine et à ma famille pour leurs encouragements et leur soutien inconditionnel pendant la durée de ma maîtrise.

Finalement, je veux remercier les organismes boursiers qui ont donné un sérieux coup de main tout au long de cette maîtrise, soit les Fonds de recherche sur la nature et les technologies du Québec (NATEQ) et le Centre des Études Supérieures de l'Université du Québec à Trois-Rivières (CEU UQTR).

TABLE DES MATIÈRES

<i>RÉSUMÉ</i>	<i>III</i>
<i>AVANT-PROPOS</i>	<i>V</i>
<i>i) Conformité du manuscrit</i>	<i>V</i>
<i>ii) Remerciements</i>	<i>VI</i>
<i>TABLE DES MATIÈRES</i>	<i>VIII</i>
<i>LISTE DES TABLEAUX</i>	<i>X</i>
<i>LISTE DES FIGURES</i>	<i>XII</i>
<i>LISTE DES ABRÉVIATIONS</i>	<i>XV</i>
<i>CHAPITRE I</i>	<i>1</i>
<i>Introduction</i>	<i>2</i>
<i>Problématique</i>	<i>6</i>
<i>Objectifs</i>	<i>8</i>
<i>Méthodologie</i>	<i>9</i>
Sites d'étude et échantillonnage.....	<i>9</i>
Propriétés spectrales de la colonne d'eau.....	<i>10</i>
Dosage du DIC, du DOC, du TN et du TP.....	<i>10</i>
CDOM et origine du carbone.....	<i>10</i>
Détermination de la chlorophylle <i>a</i>	<i>11</i>
Production primaire.....	<i>12</i>
Production bactérienne.....	<i>13</i>
<i>Résultats et discussion</i>	<i>14</i>
Caractérisation chimique des rivières.....	<i>14</i>
Le paradigme des éléments nutritifs.....	<i>14</i>
Courbes photosynthèse-irradiance.....	<i>16</i>
Proportions de carbone excrété.....	<i>18</i>
Libération de carbone, composition du DOC et production bactérienne.....	<i>19</i>
<i>Conclusion</i>	<i>21</i>
<i>Références bibliographiques</i>	<i>22</i>
<i>CHAPITRE II</i>	<i>23</i>
<i>Abstract</i>	<i>25</i>
<i>Introduction</i>	<i>27</i>
<i>Material and methods</i>	<i>31</i>
Study sites and sampling.....	<i>31</i>
Spectral profiles, diffuse vertical attenuation coefficients and beam attenuation coefficient.....	<i>32</i>
DIC, DOC, TP and TN.....	<i>32</i>
CDOM and carbon origin.....	<i>33</i>
Chlorophyll <i>a</i> determination.....	<i>34</i>
P vs E experiments.....	<i>35</i>
Bacterioplankton production.....	<i>37</i>
<i>Results</i>	<i>38</i>
Total phosphorus and nitrogen, dissolved organic carbon and light climate.....	<i>38</i>
P vs E curves.....	<i>39</i>

Proportion of extracellular release	41
Primary production dynamics and DOC composition	42
Bacterial production and DOC origin	42
<i>Discussion</i>	43
The nutrient paradigm and its application in river ecology	43
P vs E experiments	45
Photosynthesis and carbon partitioning between particulate and extracellular organic carbon	47
Optical variables and DOC quality	49
The autochthonous nature of DOC and bacterial production	51
<i>Conclusion</i>	53
<i>Acknowledgements</i>	54
<i>References</i>	55
<i>ANNEXE I</i>	72
<i>Freshwater Biology submission guidelines</i>	72

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	<p>Characteristics of the sampled rivers and their watersheds.</p> <p>Caractéristiques des rivières échantillonnées et de leur bassin versant.</p> <p>.....p. 61</p>
Tableau 2	<p>Summary of the significant linear relationships amongst the dependent and independent variables. Eq. = equation number in the text; r^2 = coefficient of determination; p = probability of the slope = 0. Standard error of the regression slopes is given as (\pm SE).</p> <p>Résumé des relations linéaires significatives entre les variables dépendantes et indépendantes. Eq. = numéro de l'équation dans le texte, r^2 = coefficient de détermination de la régression linéaire, p = probabilité d'une pente égale à 0. L'erreur type de la pente de régression est donnée comme (\pm SE).</p> <p>.....p. 62</p>
Tableau 3	<p>Descriptive statistics of the different photosynthetic parameters calculated from production (P) and Chl <i>a</i>-normalized production (P^b) rates. Descriptive statistics of percent extracellular release at the light saturation index (PER at E_k) are also presented. P are expressed in $\mu\text{g C L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; P^b in $\mu\text{g C } (\mu\text{g Chl } a)^{-1} \text{ h}^{-1}$; light limited slope of the P vs E curves (α) in $\mu\text{g C L}^{-1} \text{ h}^{-1} (\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ sec}^{-1})^{-1}$; Chl <i>a</i>-normalized light limited slope of the P vs E curves (α^b) in $\mu\text{g C } (\mu\text{g Chl } a)^{-1} \text{ h}^{-1} (\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ sec}^{-1})^{-1}$; E_k in $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$; and PER at E_k in %.</p>

Statistiques descriptives des différents paramètres photosynthétiques calculés à partir des taux de production (P) et taux de production normalisés (P^b) par unité de Chl *a*. Les statistiques descriptives des proportions de carbone libéré à l'indice de saturation en lumière (PER at E_k) sont également présentées. P est exprimé en $\mu\text{g C L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; P^b en $\mu\text{g C } (\mu\text{g Chl } a)^{-1} \text{ h}^{-1}$; la pente de la portion limitée en lumière de la courbe P vs E (α) en $\mu\text{g C L}^{-1} \text{ h}^{-1} (\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ sec}^{-1})^{-1}$; la pente de la portion limitée en lumière de la courbe P vs E normalisée par unité de Chl *a* (α^b) en $\mu\text{g C } (\mu\text{g Chl } a)^{-1} \text{ h}^{-1} (\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ sec}^{-1})^{-1}$; E_k en $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$; et PER at E_k in %.

.....p. 63

LISTE DES FIGURES

- Figure 1 Map of the a) des Envies River watershed and its tributaries, and the b) fluvial Lake Saint-Pierre showing the geographical position of the sampling stations.

Carte géographique présentant la position des stations échantillonnées dans a) le bassin hydrographique de la rivière des Envies, et b) le bassin hydrographique du lac Saint-Pierre.

.....p. 64

- Figure 2 Scatter plot showing the lack of relationship between total phosphorus (TP) concentration, dissolved organic carbon (DOC) concentration and the proportion of autochthonous-like DOC (% auto). Increasing bubble size represent increasing % auto.

Graphique de dispersion montrant l'absence de relation entre les concentrations de phosphore total (TP), les concentrations de carbone organique dissous (DOC) et les proportions de molécules autochtones (% auto) composant le DOC. La taille des points est proportionnelle à % auto.

.....p. 65

- Figure 3 Representative P vs E curves from the Nicolet river showing a) total (P_{TOC} ; clear circles and medium dashed line), particulate (P_{POC} ; filled circles and solid line) and extracellular (P_{EOC} ; filled triangles and short dashed line) production rates, and b) the resulting percent extracellular release (PER).

Courbes P vs E de la rivière Nicolet, représentatives de la majorité des stations, montrant a) les courbes de production totale (P_{TOC} ; cercles clairs

et ligne à longs segments), particulaire (P_{POC} ; cercles pleins et ligne pleine) et de libération de carbone organique extracellulaire (P_{EOC} ; triangles pleins et ligne à courts segments), et b) une courbe de proportion de carbone libéré (PER).

.....p. 66

Figure 4 Relationship between a) extracellular (P_{EOC}) and particulate (P_{POC}) production rates for all experiments, including the 1:1 line, and b) the percent extracellular release (PER) and P_{POC} for all experiments.

Relation entre a) les taux de libération (P_{EOC}) et de fixation (P_{POC}) de carbone, et b) les proportions de carbone excrété et les taux de photosynthèse pour l'ensemble des résultats obtenus. Le rapport 1:1 est indiqué en a) par la ligne pointillée.

.....p. 67

Figure 5 Relationship between the maximum release rate of extracellular organic carbon ($P_{max\ EOC}$) by phytoplankton and the light-limited slope of the P vs E curve (α).

Relation entre les taux de libération de carbone maximaux ($P_{max\ EOC}$) et les pentes des portions limitées en lumière des courbe P vs E (α).

.....p. 68

Figure 6 Relationship between the maximum carbon fixation rate of phytoplankton ($P_{max\ POC}$) and a) the CDOM spectral slope coefficient (S), and b) the percent of fluorescence related to autochthonous-like DOC (% auto). High

values of S and % auto indicate higher proportion of autochthonous-like molecules in the sample.

Relation entre les taux de fixation de carbone maximaux ($P_{\max \text{ POC}}$) et a) la pente non-linéaire des spectres d'absorption du CDOM (S), et b) le pourcentage de fluorescence attribué au DOC autochtone (% auto). Les valeurs de S et % auto sont proportionnelles à la proportion de molécules autochtones dans le milieu.

.....p. 69

Figure 7 Relationship between a) bacterial production (BP) and the CDOM spectral slope coefficient (S), and b) the DOC-normalized bacterial production (BP/DOC) and S. High values of S indicate higher proportion of autochthonous-like molecules in the sample.

Relation entre a) la production bactérienne (BP) et la pente non-linéaire des spectres d'absorption du CDOM (S), et b) la production bactérienne normalisée par unité de DOC (BP/DOC) et S. Les valeurs de S sont proportionnelles à la proportion de molécules autochtones dans le milieu.

.....p. 70

Figure 8 Relationship between bacterial production (BP) and the maximal release of EOC ($P_{\max \text{ EOC}}$) by phytoplankton.

Relation entre la production bactérienne (BP) et les taux de libération de carbone maximaux ($P_{\max \text{ EOC}}$) par le phytoplancton.

.....p. 71

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Vous trouverez dans cette section une description bilingue des abréviations utilisées dans les portions francophone et anglophone du manuscrit. Les abréviations anglophones furent utilisées dans tout le manuscrit par souci de cohérence avec la littérature citée. Lorsque possible, les unités dans lesquelles sont exprimés ces termes dans le manuscrit sont indiquées entre parenthèse sous la description française. Afin de simplifier la consultation de cette liste, l'ordre alphabétique des abréviations fut préféré à l'ordre d'apparition dans le texte. Certaines définitions comportent d'autres abréviations qui peuvent être consultées dans cette liste au besoin.

α	Light-limited slope of the P vs E curve [$\mu\text{g C L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$) ⁻¹] Pente de la portion limitée en lumière de la courbe P vs E
λ	Wavelength [nm] Longueur d'onde
% auto	Percent of fluorescence related to autochthonous-like DOC [%] Pourcentage de fluorescence attribué au DOC autochtone
a_{CDOM}	CDOM absorption coefficient [m^{-1}] Coefficient d'absorption du CDOM
BP	Bacterial production rate [$\mu\text{g C L}^{-1} \text{ h}^{-1}$] Taux de production bactérienne
CDOM	Chromophoric dissolved organic matter Matière organique dissoute chromophorique
Chl <i>a</i>	Chlorophyll <i>a</i> [$\mu\text{g L}^{-1}$] Chlorophylle <i>a</i>
DOC	Dissolved organic carbon [mg L^{-1}] Carbone organique dissous
E	Irradiance [$\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$] Irradiance
E_d	Downwelling irradiance [$\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$] Irradiance descendante

E_k	Light saturation index [$\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{sec}^{-1}$] Indice de saturation en lumière
EOC	Extracellular organic carbon [$\mu\text{g L}^{-1}$] Carbone organique extracellulaire
K_d	Diffuse attenuation coefficient of light [m^{-1}] Coefficient d'atténuation diffuse de la lumière
P_{\max}	Maximum carbon fixation or release rate [$\mu\text{g C L}^{-1} \text{h}^{-1}$] Taux de fixation ou de libération de carbone maximal
P_{\max}^b	Chl <i>a</i> -normalized P_{\max} [$\mu\text{g C } (\mu\text{g Chl } a)^{-1} \text{h}^{-1}$] P_{\max} normalisé par unité de Chl <i>a</i>
PAR	Photosynthetically active radiation [$\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{sec}^{-1}$] Lumière utilisée pour la photosynthèse
PER	Percent extracellular release [%] Proportion de carbone libéré
P vs E	Photosynthesis versus Irradiance curve Courbe Photosynthèse-Irradiance
P_{EOC}	Extracellular organic carbon release rate [$\mu\text{g C L}^{-1} \text{h}^{-1}$] Taux de libération de carbone organique extracellulaire
P_{POC}	Particulate organic carbone production rate [$\mu\text{g C L}^{-1} \text{h}^{-1}$] Taux de production de carbone organique particulaire
P_{TOC}	Total organic carbon production rate [$\mu\text{g C L}^{-1} \text{h}^{-1}$] Taux de production du carbone organique total
S	CDOM spectral slope coefficient [μm^{-1}] Pente non-linéaire des spectres d'absorption du CDOM
SFS	Synchronous fluorescence spectra Spectre de fluorescence synchrone
TN	Total nitrogen [mg L^{-1}] Azote total
TP	Total phosphorus [$\mu\text{g L}^{-1}$] Phosphore total

CHAPITRE I

Résumé francophone

Introduction

La productivité des écosystèmes fluviaux, comme tout autre écosystème, est dirigée par un échange complexe d'énergie et de matière organique entre producteurs et consommateurs à la base du réseau trophique aquatique. Cette matière organique est transférée aux niveaux trophiques supérieurs par l'intermédiaire de deux voies principales : le réseau alimentaire herbivore classique et le réseau alimentaire microbien (Azam *et al.*, 1983). Dans le premier cas, la matière organique transférée est issue de la photosynthèse par des organismes autotrophes. Dans l'autre cas, la matière organique dissoute est rendue disponible aux niveaux trophiques supérieurs par les activités de recyclage de microorganismes hétérotrophes.

Les flux de carbone dans les écosystèmes d'eau douce ont traditionnellement été étudiés en lac le long de gradients environnementaux de concentration en éléments nutritifs. Ces études ont mené à la création d'un paradigme des éléments nutritifs où les lacs et les réservoirs sont classifiés selon leur statut trophique (oligotrophe à eutrophe) répondant à leur charge en éléments nutritifs et à leur biomasse de producteurs primaires (concentration en chlorophylle *a*; Carlson, 1977). Toutefois, tel que signalé par Williamson *et al.* (1999), le paradigme des éléments nutritifs ne se base que sur l'une des nombreuses caractéristiques des écosystèmes aquatiques : la limitation en éléments nutritifs de la productivité. Bien que l'indice des statuts trophiques ait été adapté aux systèmes lotiques (Dodds, Jones & Welch, 1998), il est généralement accepté que les rivières en milieu tempéré ne sont pas limitées par les éléments nutritifs (Wehr & Descy, 2003). Ceci est d'autant plus vrai dans les rivières subissant de forts bouleversements anthropiques et où les relations entre les concentrations en éléments nutritifs et les biomasses de phytoplancton sont habituellement faibles (Reynolds, 1988; 1995). Ainsi, une meilleure compréhension des mécanismes régulant les flux de carbone à la base des réseaux trophiques de ces écosystèmes est nécessaire. Il a récemment été proposé par Williamson *et al.* (1999) que l'addition de la matière organique dissoute chromophorique (CDOM), la fraction colorée du carbone organique dissous (DOC), au paradigme des éléments nutritifs pourrait améliorer cette compréhension.

La majeure partie (~ 70%) de la matière organique présente dans les écosystèmes aquatiques se retrouve sous forme de DOC (Wetzel, 2001). De plus, le DOC joue un rôle très important dans le fonctionnement des écosystèmes aquatiques, tant aux points de vue physique et chimique que biologique. Tout d'abord, le DOC est reconnu comme l'une des principales variables responsables de l'atténuation des radiations solaires dans l'eau (Kirk, 1994). En effet, l'absorption de la lumière par le CDOM est responsable de la majorité de l'atténuation du rayonnement ultraviolet (UVR; 280-400 nm) et des plus faibles longueurs d'onde de la lumière utilisée pour la photosynthèse (PAR; 400-700 nm) dans l'eau (Morris *et al.*, 1995; Laurion, Vincent & Lean, 1997). En affectant ainsi la distribution de l'énergie solaire, le CDOM est susceptible d'affecter la productivité primaire (Carpenter *et al.*, 1998), la profondeur de la zone de mélange (Christensen *et al.*, 1996) et la répartition des organismes biologiques (Roy, 2000). D'un point de vue chimique, plusieurs études démontrent que le DOC peut former des liaisons chimiques avec des éléments nutritifs, notamment le phosphore, et ainsi en limiter la disponibilité aux organismes biologiques (Francko & Heath, 1986). Enfin, le DOC représente une importante source de matière organique pour les réseaux trophiques aquatiques. Cette matière organique sera transmise vers les maillons trophiques supérieurs par l'entremise du réseau alimentaire microbien (Azam *et al.*, 1983). L'efficacité de l'utilisation du DOC par les bactéries hétérotrophes et de son transfert trophique subséquent sont largement influencés par la biodisponibilité du DOC et par les coûts de respiration de leurs consommateurs. Cette biodisponibilité est souvent définie en terme de poids moléculaire.

La composition chimique du DOC est très hétérogène et est fortement influencée par son origine (Findlay & Sinsabaugh, 2003). Le DOC autochtone provient de la production primaire aquatique et se caractérise par une grande proportion de molécules de faible poids moléculaire. Au contraire, le DOC est dit allochtone lorsqu'il possède une origine terrestre. Cette matière allochtone est formée lors de la dégradation microbienne ou abiotique de matière végétale terrestre telle que la lignine ou la cellulose et est caractérisée par des molécules humiques de poids moléculaire élevé. Les impacts potentiels du DOC dans les écosystèmes aquatiques sont largement dépendants de sa composition chimique puisque chacune de ces sources altère son environnement

physique, chimique et biologique différemment. Le DOC allochtone a un impact plus important sur la pénétration de la lumière et la disponibilité des éléments nutritifs en raison de sa nature chromophorique et de ses propriétés chimiques. Toutefois, la matière autochtone est d'une plus grande qualité pour le réseau alimentaire microbien en raison de sa plus grande biodisponibilité. Les quantités et les proportions de chacune de ces sources sont très variables en milieu naturel et sont dépendantes des apports de DOC autochtone et allochtone et de leur transformation dans le milieu.

Le type de végétation dans le bassin versant, souvent affecté par l'utilisation des terres, et l'abondance des précipitations influencent les quantités de nutriments et de DOC allochtone transportées aux cours d'eau par ruissellement (Kortelainen *et al.*, 2004). Dans les rivières, le temps de résidence de l'eau est susceptible d'affecter les quantités de substances humiques puisque qu'il détermine le laps de temps auquel le DOC est exposé aux processus de transformation tels que la dégradation microbienne et la photooxydation. L'utilisation du carbone allochtone par les bactéries hétérotrophes mène à une transformation ou une élimination de cette matière organique. L'activité microbienne est intimement liée à l'action des radiations solaires qui a pour effet d'augmenter la biodisponibilité du DOC en l'oxydant en de plus petites molécules (Moran & Zepp, 1997; Wetzel, Hatcher & Bianchi, 1995).

Le phytoplancton est reconnu comme une importante source de DOC autochtone dans les écosystèmes aquatiques. La diffusion passive au travers de la membrane cellulaire (Bjørnsen, 1988) et la libération active afin de prévenir un découplage entre la fixation de carbone et la croissance cellulaire (Berman-Frank & Dubinsky, 1999; Wood & Van Valen, 1990) sont deux mécanismes hypothétiques permettant d'expliquer la production de carbone organique extracellulaire (PEOC) par le phytoplancton. Ainsi, en situation de forte irradiance et/ou de limitation en nutriments, la fixation de carbone par la photosynthèse est susceptible d'excéder les besoins métaboliques de la cellule (croissance et respiration) causant ainsi une accumulation de carbone excédentaire devant être éliminé. Dans les deux cas, le carbone organique extracellulaire (EOC) est reconnu comme une source de matière organique de grande qualité pour supporter la production

bactérienne (Cole, Likens & Strayer, 1982). Notons également qu'en milieu naturel, les infections virales et le broutage sont aussi reconnus comme des mécanismes responsables de la libération de EOC par le phytoplancton.

Problématique

Il est bien connu que les activités anthropiques provoquent de profonds bouleversements environnementaux dans l'écologie des lacs et des rivières. Les activités humaines, en constante expansion, sont responsables d'une multitude de phénomènes tant chimiques, physiques et biologiques affectant nos cours d'eau. La situation est telle qu'aujourd'hui, rares sont les rivières en zones tempérées ne recevant pas une charge en éléments nutritifs supérieure au niveau naturel. En plus d'augmenter la charge en éléments nutritifs dans ces cours d'eau, les activités anthropiques sont à même de modifier la végétation dans les bassins versants, influençant ainsi les sources de matière organique transportées vers les cours d'eau.

À titre d'exemple, le lac Saint-Pierre est le dernier et le plus grand (480 km²) des lacs fluviaux du fleuve Saint-Laurent. Il se caractérise principalement par ses importantes plaines inondables et par ses diverses masses d'eau ayant des propriétés physiques et chimiques distinctes. De récentes études suggèrent que la concentration en éléments nutritifs ainsi que la concentration et la composition du DOC de ces masses d'eau sont très variables (Frenette, Arts & Morin, 2003; Frenette *et al.*, soumis). Ces différences seraient à l'origine liées aux propriétés intrinsèques des tributaires d'où originent ces masses d'eau, mais aussi aux temps de transport de cette eau dans le lac (Frenette *et al.*, soumis). Ainsi, les activités anthropiques pratiquées dans les bassins versants de ces tributaires occasionnent une importante hétérogénéité entre les masses d'eau circulant dans ce lac fluvial. Il est aussi important de noter la présence de fortes biomasses de macrophytes submergées qui modifient grandement les propriétés chimiques et physiques de l'eau (Martin, Frenette & Morin, sous presse).

La masse d'eau nord du lac Saint-Pierre est principalement le résultat de l'entrée de la rivière des Outaouais au niveau du lac Saint-Louis, tout juste en amont de la ville de Montréal et de la circulation de ses eaux le long de la rive nord du fleuve Saint-Laurent. Plus en aval au niveau du lac Saint-Pierre, l'entrée des rivières Maskinongé, Du Loup et Yamachiche contribue à amplifier ce phénomène. La masse d'eau nord du Saint-Laurent,

d'une couleur brunâtre et turbide, est caractéristique des eaux du Bouclier canadien (Hudon, Paquet & Jarry, 1996; Vis *et al.*, 1998; Frenette *et al.*, 2003). Sa richesse en substances humiques (acides fulviques et humiques) d'origine allochtone résultant de la décomposition de la matière ligneuse des bassins versants boréaux lui confère une concentration en carbone organique dissous relativement élevée.

La masse d'eau sud du lac Saint-Pierre est alimentée par des rivières drainant un bassin versant agricole. Cette masse d'eau est principalement influencée par les rivières Richelieu, Saint-François et Yamaska. En raison des activités pratiquées dans leur bassin versant, ces eaux possèdent des concentrations en éléments nutritifs et DOC très élevées. Les études de Frenette *et al.* (soumis) ont mis en évidence l'influence des plaines inondables dans la composition en CDOM de ces eaux.

La masse d'eau centrale du lac Saint-Pierre tire son origine des Grands Lacs. Cette eau, d'une couleur vert clair, présente des concentrations en DOC et en matière particulaire relativement faibles (Frenette *et al.*, 2003). Dans le lac Saint-Pierre, la répartition de cette masse d'eau est principalement confinée au chenal maritime et à ses zones latérales. En circulant à des vitesses élevées dans le chenal, la masse d'eau centrale semble agir à titre de barrière hydrodynamique et limiter les échanges entre les masses d'eau sud et nord (Basu, Kalff & Pinel Alloul, 2000).

De la même façon, le bassin versant de la rivière des Envies est le sous-bassin de la rivière Batiscan où la concentration d'entreprises agricoles est la plus élevée. Il présente une grande hétérogénéité en ce qui a trait aux caractéristiques chimiques et physiques de ses cours d'eau. Ce bassin, comme plusieurs autres, est composé d'une multitude de tributaires fortement influencés par des milieux forestiers ou des perturbations anthropiques tels que l'urbanisme et l'agriculture. Ces différentes utilisations des terres affectent directement les apports et la composition du DOC dans les cours d'eau.

Objectifs

Dans un ensemble de rivières tempérées subissant des influences anthropiques différentes et ayant des concentrations en éléments nutritifs et des concentrations et compositions en DOC très hétérogènes, cette étude a pour objectifs :

- 1) de comparer les rôles joués par les éléments nutritifs et l'atténuation de la lumière par le DOC dans le contrôle de la fixation et de la libération de carbone par le phytoplancton;
- 2) d'évaluer les quantités et les proportions de carbone fixé et libéré par le phytoplancton;
- 3) d'évaluer les impacts de la libération de carbone par le phytoplancton sur la qualité du DOC et la production bactérienne.

Méthodologie

Cette section présente un bref survol des méthodes utilisées dans le cadre de cette étude. Une description plus détaillée se trouve dans la section *Material and methods* du chapitre II de ce mémoire.

Sites d'étude et échantillonnage

Afin de répondre aux objectifs définis précédemment, un ensemble de 15 rivières a été sélectionné à partir de leur concentration en éléments nutritifs et en DOC. Un pré-échantillonnage révèle qu'il n'existe pas de relation significative entre la concentration en éléments nutritifs et la concentration et composition en DOC dans ces rivières. Cet ensemble représente donc un contexte idéal pour étudier les relations liant la productivité aquatique aux éléments nutritifs et au DOC. Toutes les rivières choisies font partie 1) du bassin hydrographique de la rivière des Envies (Chapitre II, Fig. 1a) ou 2) du bassin hydrographique du lac Saint-Pierre et de ses tributaires (Chapitre II, Fig. 1b). Celles-ci subissent à diverses intensités des influences anthropiques susceptibles d'affecter leurs propriétés chimiques. Les débits de chacune des rivières furent obtenus à partir de Campeau *et al.* (2005) et de Morin & Bouchard (2000).

Les 15 rivières ont été échantillonnées entre le 7 juillet et le 8 août 2003, de 8:30 à 10:00 afin de limiter les variations circadiennes de la photosynthèse. À chacune des stations, les propriétés spectrales de la colonne d'eau furent mesurées et des échantillons d'eau furent récoltés à 30 cm sous la surface pour 1) l'analyse des composés dissous et particuliers ainsi que 2) les expériences de production phytoplanctonique et bactérienne. Au moment de l'échantillonnage, la colonne d'eau des rivières étudiées était bien mélangée tel que démontré par les profils de température. Les échantillons furent conservés au froid (4 °C) et à la noirceur jusqu'au moment des manipulations i.e. jamais plus de 3 h suivant la collecte des échantillons.

Propriétés spectrales de la colonne d'eau

Les propriétés spectrales de la colonne d'eau furent mesurées à l'aide d'un spectroradiomètre (Biospherical Instrument Inc., modèle PUV-2545). Ainsi, l'irradiance $E_d(\lambda)$ dans le spectre visible (PAR: 400-700 nm) fut quantifiée de la surface jusqu'au fond pour ensuite en calculer les coefficients d'atténuation diffuse $K_d(\lambda)$.

Dosage du DIC, du DOC, du TN et du TP

Les échantillons prélevés pour l'analyse du carbone inorganique dissous (DIC), du carbone organique dissous (DOC) et de la matière organique dissoute chromophorique (CDOM) furent immédiatement filtrés au travers de membranes de type Isopore (0,22 μm ; Millipore) préalablement rincées avec 50 ml d'eau Milli-Q. Les échantillons furent conservés au froid (4 °C) et à la noirceur jusqu'au moment de l'analyse. Les échantillons de DIC et de DOC furent analysés à l'aide d'un analyseur de carbone organique total (analyseur de TOC) par oxydation au persulfate de sodium et réaction avec de l'acide phosphorique (APHA, 1998). L'azote (TN) et le phosphore (TP) total furent respectivement mesurés en tant que nitrates après oxydation au persulfate ou par spectrophotométrie après une oxydation au persulfate de potassium (APHA, 1998).

CDOM et origine du carbone

Nous avons utilisé 3 méthodes pour évaluer la nature autochtone et/ou allochtone du DOC. Les spectres d'absorption du CDOM ont été mesurés par spectrophotométrie (Shimadzu, modèle UV-2401) dans des cuvettes de 1 cm à intervalle de 1 nm entre 290-900 nm après une calibration avec de l'eau Milli-Q. Afin de corriger pour l'effet de la température sur l'absorbance, la valeur d'absorbance à 690 nm (effet minimal de la température) fut retranchée à chacun des spectres (Laurion *et al.*, 2000). Les valeurs d'absorbance à 340 nm furent converties en coefficient d'absorption en utilisant la formule proposée par Kirk (1994), soit :

$$a_{\text{CDOM}} (\text{m}^{-1}) = \frac{2.303 \cdot A_{\lambda}}{L}$$

où A_{λ} est la densité optique à la longueur d'onde λ et L est la largeur de la cuvette. Les coefficients d'absorption du CDOM (a_{CDOM}) fournissent un indice de la coloration de l'eau. Puisque la coloration de l'eau est principalement liée à son contenu en substances humiques, les échantillons les plus colorés sont considérés comme les plus allochtones.

La nature autochtone et/ou allochtone du CDOM fut ensuite évaluée par l'estimation de la pente (S) des spectres d'absorption non-linéaires (300-650 nm) du CDOM (Stedmon, Markager & Kaas, 2000). Cette pente montre l'efficacité avec laquelle le CDOM absorbe la lumière en fonction de sa longueur d'onde et est directement liée à la nature même du CDOM (Blough & Del Vecchio, 2002). Puisque la valeur de la pente S est inversement proportionnelle au poids moléculaire des molécules constituant le pool de CDOM (Stedmon & Markager, 2001; Stabenau & Zika, 2004), de faibles valeurs de S caractérisent des eaux à dominance allochtone.

Finalement, nous avons aussi utilisé les propriétés de fluorescence du CDOM afin d'évaluer la composition relative en molécules de type autochtone ou allochtone (Mobed *et al.*, 1996). Pour chacun des échantillons, un spectre de fluorescence synchrone (SFS) fut mesuré à l'aide d'un spectrofluorimètre (Cary, modèle Eclipse). La configuration requise de l'appareil est décrite en détails par Belzile, Gibson & Vincent (2002). Les valeurs de fluorescence furent corrigées pour l'absorbance des faisceaux d'excitation et d'émission dans la cuvette (*inner-filter effect*) selon les méthodes décrites par McKnight *et al.* (2001). Le pourcentage de fluorescence résultant de molécules de type autochtone (% auto) fut calculé en divisant l'aire sous les SFS entre 265-305 nm par l'aire totale entre 265-415 nm.

Détermination de la chlorophylle a

Les échantillons d'eau furent filtrés en duplicata sur des filtres de fibre de verre (Millipore; 1 μm) afin d'en récolter le phytoplancton, puis conservés au froid (-20 °C) et à

la noirceur jusqu'à l'analyse. La concentration en chlorophylle *a* (Chl *a*) a été déterminée par spectrophotométrie suivant une extraction dans l'éthanol (95 %) chaud (Nush, 1980).

Production primaire

Les taux de fixation (P_{POC}) et de libération (P_{EOC}) de carbone par le phytoplancton furent mesurés par la technique du ^{14}C (Steemann-Nielsen, 1952) au moyen de courbes photosynthèse-irradiance (P vs E). Pour chacune des stations, 50 ml d'échantillon furent transférés dans deux groupes de 12 bouteilles de culture cellulaire en polystyrène (Frenette *et al.*, 1993). Dans chacun des groupes, 2 bouteilles furent enveloppées de papier d'aluminium pour en garder le contenu au noir. Du bicarbonate de sodium radioactif ($\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$) fut ajouté à chacune des bouteilles jusqu'à une concentration finale de $0,1 \mu\text{Ci ml}^{-1}$. Trois sous-échantillons de 1 ml furent retirés de chaque groupe de bouteille afin de déterminer précisément l'activité spécifique finale.

Les bouteilles furent incubées pendant 1,5 h dans un incubateur radial inspiré de Babin, Morel & Gagnon (1994) à température contrôlée afin de reproduire la température *in situ* (voir Chapitre II, Tableau 1). Une lampe Optimarc 250 W fut utilisée comme source de lumière artificielle afin d'atteindre, dans les incubateurs, des intensités lumineuses variant entre 7 et $996 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{sec}^{-1}$. L'irradiance scalaire (PAR; 400-700 nm) dans les bouteilles fut mesurée avant chaque incubation avec un quantomètre (Biospherical Instrument Inc., modèle QSL-2100).

Après les incubations, des sous-échantillons furent prélevés de chaque bouteille pour les mesures de fixation de carbone total (P_{TOC}) et la libération de carbone organique extracellulaire (P_{EOC}). Le volume résiduel fut filtré sur des filtres de fibre de verre (Millipore; $1 \mu\text{m}$) pour les mesures de fixation de carbone dans la fraction particulaire (P_{POC}). Après acidification et ajout de cocktail à scintillation, le ^{14}C fixé par le phytoplancton fut mesuré à l'aide d'un compteur à scintillation liquide (Wallac, modèle 1409).

Les taux de fixation (P_{TOC} et P_{POC}) et de libération (P_{EOC}) de carbone furent calculés en suivant les recommandations du *Joint Global Ocean Flux Study* (JGOFS protocols, 1996). Les paramètres photosynthétiques ont été estimés selon les équations proposées par Webb, Newton & Starr (1974) et Platt, Gallegos & Harrison (1980). Pour chacune des courbes, le modèle permettant d'obtenir le plus grand coefficient de détermination (r^2) fut conservé.

Production bactérienne

Les taux de production bactérienne furent mesurés par la technique de la ^3H -leucine dans des tubes Eppendorf (Smith & Azam, 1992). Pour chaque station, 2 groupes de 12 bouteilles furent incubées (1 contrôle par groupe), sans traceur radioactif, pendant 1,5 h (comme pour la production primaire). Par la suite, un sous-échantillon de 1,5 ml fut retiré de chaque bouteille et transféré dans un tube Eppendorf de 2 ml contenant de la leucine radioactive (concentration finale de 10 nM). Ces tubes furent incubés selon le même gradient de lumière et à la température *in situ* pour 30 min. Suite à diverses étapes de rinçage (acide trichloroacétique, éthanol) et de centrifugation, du cocktail à scintillation fut ajouté aux échantillons et la radioactivité fut mesurée à l'aide d'un compteur à scintillation liquide (Wallac, modèle 1409). Un facteur de 3,1 kg C mol⁻¹ fut utilisé pour convertir la synthèse des protéines mesurée par la technique de la leucine en production de carbone (Kirchman, 1993). Puisque la libération de carbone par le phytoplancton ne semblait pas stimuler la production bactérienne le long du gradient de lumière, la moyenne des 10 échantillons fut utilisée par la suite.

Résultats et discussion

Caractérisation chimique des rivières

Les rivières échantillonnées présentent des propriétés chimiques caractéristiques des rivières tempérées subissant des bouleversements anthropiques (Chapitre II, Tableau 1). En raison du plan d'échantillonnage, conçu afin de maximiser les différences inter-sites, nos rivières se répartissent le long d'un fort gradient environnemental de concentration en éléments nutritifs (TP et TN) et en DOC.

Ainsi, les rivières sélectionnées présentent des concentrations en TP variant entre 7.9 et 93.2 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Chapitre II, Tableau 1). Ces différences nous permettent de classer les rivières étudiées d'oligotrophe à eutrophe (classement selon l'indice de statut trophique des ruisseaux proposé par Dodds *et al.*, 1998). De façon similaire, les concentrations en DOC (4.25 à 10.33 mg L^{-1}) et $a\text{CDOM}$ (4.3 à 28.8 m^{-1}) sont très variables et mettent en évidence la grande hétérogénéité retrouvée au sein de notre système (Chapitre II, Tableau 1). Ces différences de DOC et CDOM sont accompagnées par de fortes variations de la nature du DOC (S variant de 16,37 à 20,53 μm^{-1} , % auto variant de 7,2 à 30,6 %). Puisqu'il n'existe pas de relation significative entre la concentration en TP, la concentration en DOC et la composition du DOC (Chapitre II, Fig. 2), cette étude présente un contexte idéal pour en étudier les effets indépendants sur la production primaire et bactérienne.

Le paradigme des éléments nutritifs

La biomasse de phytoplancton, évaluée dans cette étude par la concentration de chlorophylle *a* dans les rivières, explique de façon significative les variations de $P_{\text{max POC}}$ (Chapitre II, Tableau 2, Eq. 2: $r^2 = 0,63$; $p < 0,001$) et $P_{\text{max EOC}}$ (Chapitre II, Tableau 2, Eq. 3: $r^2 = 0,33$; $p < 0,05$) entre les rivières. Malgré une relation positive entre le TP et la Chl *a* (Chapitre II, Tableau 2, Eq. 1: $r^2 = 0,43$; $p < 0,01$), les concentrations en éléments nutritifs (TP) des rivières ne sont pas significativement corrélées à $P_{\text{max POC}}$ ($p = 0,06$) et

$P_{\max \text{ EOC}}$ ($p = 0,12$). Notons tout de même que $P_{\max \text{ POC}}$ tend à augmenter dans les milieux plus riches en phosphore. Les mêmes relations non-significatives sont obtenues en utilisant TN comme variable indépendante. Lorsque pondérés par unité de Chl a , la probabilité que les relations entre le TP et les taux maximaux de fixation et de libération de carbone soient significatives sont encore plus faibles ($p = 0,6$ à la fois pour $P_{\max \text{ POC}}^b$ et $P_{\max \text{ EOC}}^b$).

De façon similaire, la concentration en DOC ne permet pas d'expliquer les variations de $P_{\max \text{ POC}}$ ($p = 0,9$) et $P_{\max \text{ EOC}}$ ($p = 0,9$) entre les rivières. Une relation négative significative est toutefois observée entre $P_{\max \text{ POC}}$ et $a\text{CDOM}$ (Chapitre II, Tableau 2, Eq. 4: $r^2 = 0,31$; $p = 0,038$) même si le CDOM ne permet pas de prédire significativement la Chl a ($p = 0,7$). Cette relation avec la lumière n'est toutefois pas perceptible par une relation entre la production primaire et $K_d\text{PAR}$ ($p = 0,8$ et $0,6$ pour $P_{\max \text{ POC}}$ et $P_{\max \text{ EOC}}$).

Ainsi, les variations dans les taux de photosynthèse entre les rivières sont principalement le résultat des variations de biomasse de phytoplancton et de régime lumineux entre les sites d'étude. Les plus grandes biomasses de phytoplancton sont retrouvées dans les rivières contenant plus d'éléments nutritifs, et ce indépendamment de leur régime lumineux. Toutefois, les rivières riches en nutriments ne sont pas les plus productives étant donné l'absence de relation entre le TP et $P_{\max \text{ POC}}^b$. En raison de ses effets sur les propriétés chimiques et physiques des plans d'eau, Williamson *et al.* (1999) proposa d'incorporer le DOC au paradigme des éléments nutritifs. Le DOC seul ne nous permet pas d'expliquer les variations de production phytoplanctonique entre nos rivières. Toutefois, la couleur de l'eau ($a\text{CDOM}$) explique de façon significative les variations de $P_{\max \text{ POC}}$ entre les rivières. Cette relation est attribuable au rôle que joue le CDOM dans l'atténuation de la lumière solaire, affectant ainsi la disponibilité de la lumière pour les producteurs primaires. Cette relation ne se perçoit toutefois pas avec le $K_d\text{PAR}$, celui-ci étant affecté à la fois par le CDOM et la matière particulaire.

En raison de leur charge en nutriments et du rôle prépondérant des débits, l'application du paradigme des éléments nutritifs en rivières de zones tempérées semble moins

approprié qu'en lac (Wehr & Descy, 2003 ; Reynolds, 1988; Reynolds, 1995). Afin de bien comprendre la relation entre la Chl *a* et la concentration en éléments nutritifs, il importe de considérer à la fois les gains (advection, production) et les pertes (advection, broutage, respiration) de biomasse de phytoplancton en rivière. Le phytoplancton de rivière est constamment exposé à des fluctuations stochastiques de débit menant à d'importantes variations de biomasse. Les épisodes de faibles débits (bas niveau d'eau) sont associés à des périodes de croissance rapide des algues alors que les périodes de fort débit d'eau correspondent à des événements de pertes de biomasse importantes par advection. Cette étude remet en question l'utilisation de paramètres statiques tels que la biomasse ou le phosphore total dans la détermination de la productivité des systèmes lotiques. En effet, ces variables sont susceptibles de covarier en fonction du régime hydrodynamique des rivières et nous renseignent peu sur leur productivité réelle.

Courbes photosynthèse-irradiance

L'utilisation de courbes P vs E nous a permis de démontrer le rôle fondamental exercé par la lumière dans la fixation et la libération de carbone. Des courbes P vs E de P_{POC} , P_{TOC} et P_{EOC} représentatives de l'ensemble des rivières étudiées sont présentées à la Figure 3a du chapitre II. Alors que l'augmentation non-linéaire de P_{POC} et P_{TOC} avec l'irradiance constitue une propriété typique des courbes P vs E, la réponse de la libération de carbone à l'irradiance est encore peu comprise. Dans cette expérience, P_{EOC} tend à augmenter de façon non-linéaire avec l'irradiance, tout comme le fait P_{POC} . Cette relation est toutefois beaucoup plus variable ($r^2 = 0,1$ à $0,7$) et n'est retrouvée que dans 12 des 15 rivières, les 3 autres ayant des P_{EOC} plutôt constants.

L'augmentation non-linéaire de P_{EOC} avec un accroissement de l'irradiance nous a permis d'ajuster le modèle de Webb *et al.*, (1974) aux courbes de libération de carbone et d'en estimer un taux maximal à forte irradiance. Une telle augmentation de la libération de carbone à forte irradiance fut observée auparavant par d'autres auteurs (Puskaric & Mortain-Bertrand, 2003; Girollo & Vieira, 1999; Lee & Rhee, 1999). Il est proposé que des stress de lumière (forte irradiance) ou de limitation en éléments nutritifs occasionnent

une augmentation de la libération de carbone chez le phytoplancton (Berman-Frank & Dubinsky, 1999; Wood & Van Valen, 1990). Dans ces deux situations, un découplage entre la croissance cellulaire et la fixation de carbone peut être observé. Les molécules excrétées étant des surplus de la photosynthèse, la libération de carbone devrait augmenter en situation de stress lumineux ou de limitation. Dans cette expérience, l'augmentation de la libération de carbone avec une augmentation de l'irradiance semble corroborer cette hypothèse.

Avec une augmentation de l'irradiance, la pente de la portion limitée en lumière des courbes de P_{POC} augmentent toujours plus rapidement que celle des courbes de P_{EOC} ($\alpha_{POC} > \alpha_{EOC}$; $\alpha_{POC}/\alpha_{EOC} = 1,2 - 36,2$), occasionnant ainsi une diminution exponentielle de la proportion de carbone excrété (PER) (Chapitre II, Fig. 3b). Cette relation, quoique très variable en valeur absolue, fut observée pour chacune des stations.

Une diminution exponentielle de la proportion de carbone excrété par le phytoplancton à forte irradiance fut observée par plusieurs auteurs (Descy *et al.*, 2002; Morán & Estrada, 2001; Puskaric & Mortain-Bertrand, 2003; Marañón *et al.*, 2004), tant en milieux marins que d'eau douce. Ces résultats mettent bien en évidence le rôle fondamental que joue la lumière dans la ségrégation du carbone entre les compartiments dissous et particulaire chez le phytoplancton. Vu la grande variabilité de PER à faible irradiance, il importe de bien sélectionner les irradiances utilisées pour mesurer PER en raison du risque important de surestimer l'importance de la proportion de carbone excrété à des irradiances sub-optimales pour la photosynthèse.

Dans l'ensemble, les taux maximaux de fixation ($P_{max\ POC}$) et de libération ($P_{max\ EOC}$) de carbone sont très variables (Chapitre II, Tableau 3), mais comparable avec d'autres résultats issus de lacs (Baines & Pace, 1991) et d'une rivière eutrophe (Descy *et al.*, 2002).

Proportions de carbone excrété

Pour l'ensemble de nos rivières, les proportions de carbone excrété (PER) sont très variables. Puisque l'irradiance minimale utilisée pour les courbes P vs E diffère entre les stations et que les courbes P vs E démontrent une grande sensibilité de PER à faible irradiance, nous avons choisi le PER au point de saturation de la photosynthèse (E_k) pour fin de comparaison inter-site. Dans cette étude, PER varie entre 0,8 à 39,0 % de la production primaire totale et présente une valeur moyenne de 11,6 %. Cette valeur moyenne est très près du 13% proposé par Baines & Pace (1991) dans leur méta-analyse de la libération de carbone en milieux marins et d'eau douce. De plus, elle est près de la valeur moyenne de 7% trouvée par Descy *et al.* (2002) dans la rivière Meuse, une rivière eutrophe de Belgique.

Lorsque toutes les mesures de production de chacune des courbes P vs E sont regroupées, nous observons une forte relation significative entre P_{POC} et P_{EOC} (Chapitre II, Fig. 4a, Tableau 2, Eq. 5: $r^2 = 0,61$; $p < 0,0001$). Cette relation possède une pente de 0,31, indiquant de plus grandes quantités absolues de carbone excrété à forte productivité mais de plus grande proportion de carbone excrété à faible productivité. Cette dernière relation est d'autant plus évidente lorsqu'on observe la forte relation exponentielle négative entre PER et P_{POC} (Chapitre II, Fig. 4b). Cette forte relation entre les taux de P_{POC} et de P_{EOC} est commune à plusieurs études en milieux marins et d'eau douce (Morán *et al.*, 2002; Morán & Estrada, 2002; Zlotnik & Dubinsky, 1989; Feuillade, Dufour & Feuillade, 1988). Ce résultat suggère que la quantité de carbone relâchée par le phytoplancton est contrainte par la disponibilité de produits photosynthétiques. Baines & Pace (1991) montrent dans leur méta-analyse que de plus grandes proportions de carbone excrété sont une caractéristique des environnements de faible productivité. L'explication de cette relation demeure toutefois encore obscure.

Malgré le manque de relation entre $P_{max\ EOC}$ et le coefficient d'atténuation de la lumière K_dPAR , nous observons une relation significative entre $P_{max\ EOC}$ et α , l'efficacité photosynthétique des communautés phytoplanctoniques (Chapitre II, Fig. 5, Tableau 2,

Eq. 6: $r^2 = 0,68$; $p < 0,001$). Cette relation suggère que les communautés de phytoplancton acclimatées à de faibles intensités lumineuses (petit α) excrètent de plus grandes quantités de carbone. Il est alors invitant de proposer que ces communautés se retrouvent plus rapidement en situation de stress lumineux et libèrent donc plus de EOC. Toutefois, lorsque pondérée par unité de chlorophylle a , cette relation devient non-significative et présente même une tendance négative. Ainsi, la relation observée précédemment est le fruit des variations de biomasse de phytoplancton entre les rivières. Sachant que les nutriments ne semblent pas limitants dans ces rivières et que nous n'observons pas de relation entre la libération de carbone et les conditions de lumière, la dynamique de libération observée a été imputée à un mécanisme de diffusion passive (Bjørnsen, 1988).

Libération de carbone, composition du DOC et production bactérienne

Les rivières échantillonnées présentent de fortes variations quant à leur composition en DOC (Table 1). Ces variations ne sont pas significativement corrélées aux concentrations en Chl a des rivières. Toutefois, nous observons une relation significative entre le taux maximal de photosynthèse ($P_{\max \text{ POC}}$) et le caractère autochtone du DOC tel que mesuré par les variables S (Chapitre II, Fig. 6a, Tableau 2, Eq. 7: $r^2 = 0,39$; $p < 0,01$) et % auto (Chapitre II, Fig. 6b, Tableau 2, Eq. 8: $r^2 = 0,41$; $p < 0,01$). Lorsque $P_{\max \text{ EOC}}$ est utilisé comme variable explicative de la qualité du DOC, la relation demeure significative avec S ($r^2 = 0,38$; $p < 0,05$) mais ne l'est pas avec % auto en raison de 3 points extrêmes (relation sans ces points : $r^2 = 0,86$; $p < 0,0001$).

Ainsi, les propriétés d'absorbance et de fluorescence du CDOM permettent de conclure que les rivières caractérisées par de plus forts taux maximaux de fixation et de libération de carbone possèdent un DOC de plus faible aromaticité et poids moléculaire, des caractéristiques généralement associées aux molécules autochtones. Ces molécules sont considérées de bonne qualité alimentaire pour les bactéries hétérotrophes (Cole *et al.*, 1982).

D'importantes variations de production bactérienne furent aussi observées entre les rivières échantillonnées, variant de 19 à 200 $\mu\text{g C L}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Nous n'observons pas de relation significative entre la production bactérienne et les concentrations en éléments nutritifs ($p = 0,26$) et DOC ($p = 0,87$). Nous obtenons toutefois une relation positive significative entre la production bactérienne et la composition autochtone du DOC telle que mesurée par les variables S (Chapitre II, Fig. 7a, Tableau 2, Eq. 9: $r^2 = 0,31$; $p < 0,05$) et % auto ($r^2 = 0,36$; $p < 0,05$). Cette relation avec S est d'autant plus forte lorsque nous pondérons la production bactérienne par unité de DOC (Chapitre II, Fig. 7b, Tableau 2, Eq. 10: $r^2 = 0,36$; $p < 0,05$), représentant ainsi la plus grande biodisponibilité de cette matière. Cette relation avec la qualité du DOC se reflète également lorsque nous utilisons le taux maximal de libération de carbone ($P_{\text{max EOC}}$) comme variable explicative de la production bactérienne (Chapitre II, Fig. 8, Tableau 2, Eq. 11: $r^2 = 0,49$; $p < 0,05$).

Les rivières présentant une plus grande productivité totale de phytoplancton possèdent donc un DOC de plus grande qualité, pourvu d'une plus grande proportion de molécules autochtones et supportant une plus forte production bactérienne. Dans ces rivières, une production bactérienne élevée est donc une conséquence de la production primaire. L'absence de relation entre la production bactérienne et les nutriments questionne encore une fois l'utilisation du paradigme des éléments nutritifs en milieux riverains où les éléments nutritifs ne sont généralement pas considérés comme limitants (Wehr & Descy, 1998).

Conclusion

Cette étude accentue l'importance de l'origine et de la qualité du DOC dans le fonctionnement des écosystèmes riverains. Même si le phytoplancton représente la plus petite proportion de producteurs primaires dans la plupart des systèmes lotiques, nos résultats montrent que les taux de photosynthèse et de libération de DOC du phytoplancton sont significativement corrélés aux proportions de DOC autochtones dans l'eau. Dans cette étude, les rivières caractérisées par un DOC plus autochtone supportent de plus fortes productions phytoplanctoniques et bactériennes. Dans les portions pélagiques des rivières, les algues et les bactéries hétérotrophes sont à la base du cheminement de l'énergie vers les niveaux trophiques supérieurs. Puisque la productivité à ces niveaux supérieurs dépend de l'efficacité des bactéries et des algues à utiliser le carbone présent dans le milieu, nous proposons l'hypothèse selon laquelle que les rivières caractérisées par de grandes proportions de DOC autochtones supportent une plus grande productivité totale.

Tel que mentionné par Williamson *et al.* (1999), l'addition du DOC et de ses caractéristiques au paradigme des éléments nutritifs fournit un cadre conceptuel plus robuste pour s'attaquer aux mécanismes de contrôle de la productivité des écosystèmes aquatiques. Ceci est d'autant plus vrai dans des rivières subissant de forts bouleversements anthropiques et où les nutriments, malgré leur abondance, ne surpassent pas le contrôle exercé par l'hydrologie et l'atténuation de la lumière par le DOC sur la biomasse et la production phytoplanctonique.

Références bibliographiques

Cette liste de références bibliographiques ne contient que les références qui ne sont pas incluses dans la section *References* du chapitre II.

Basu, B.K., Kalff, J., Pinel Alloul, B. (2000) The influence of macrophyte beds on plankton communities and their export from fluvial lakes in the St. Lawrence River. *Freshwater Biology*, **45**, 373-382.

Christensen, D.L., Carpenter, S.R., Cottingham, K.L., Knight, S.E., LeBouton, J.P., Schindler, D.E., Voichick, N., Cole, J.J., Pace, M.L. (1996) Pelagic responses to changes in dissolved organic carbon following division of a seepage lake. *Limnology and Oceanography*, **41**, 553-559.

Hudon, C., Paquet, S., Jarry, V. (1996) Downstream variations of phytoplankton in the St. Lawrence River (Quebec, Canada). *Hydrobiologia*, **337**, 11-26.

Laurion, I., Vincent, W.F., Lean, D.R.S. (1997) Underwater ultraviolet radiation: Development of spectral models for northern high latitude lakes. *Photochemistry and Photobiology*, **65**, 107-114.

Martin, C., Frenette, J.-J., Morin, J. (sous presse) Changes of spectral and chemical properties of a water mass passing through an extensive macrophyte bed in a large fluvial lake (Lake Saint-Pierre, Québec, Canada). *Aquatic Sciences*.

Morris, D.P., Zagarese, H., Williamson, C.E., Balseiro, E.G., Hargreaves, B.R., Modenutti, B., Moeller, R., Queimalinos, C. (1995) The attenuation of solar UV radiation in lakes and the role of dissolved organic carbon. *Limnology and Oceanography*, **40**, 1381-1391.

Vis, C., Hudon, C., Cattaneo, A., Pinel-Alloul, B. (1998) Periphyton as an indicator of water quality in the St-Lawrence River (Québec, Canada). *Environmental Pollution*, **101**, 13-24.

CHAPITRE II

Article scientifique

Control and ecological significance of carbon fixation and extracellular organic carbon release by phytoplankton in temperate rivers

*Carl Martin*¹

Jean-Jacques Frenette^{1*}

¹ Université du Québec à Trois-Rivières, 3351 Boul. des Forges, Trois-Rivières, Qc., Canada, G9A 5H7

* Author to whom correspondence should be addressed (jean-jacques_frenette@uqtr.ca)

Key words : Extracellular organic carbon, Exudation, Autochthonous DOC, Phytoplankton production, Bacterial production.

Running head: Phytoplankton release of extracellular organic carbon in temperate rivers

Abstract

1. We investigated the control mechanisms and ecological significance of phytoplankton carbon fixation (P_{POC}) and extracellular release of organic carbon (P_{EOC}) in a set of 15 temperate rivers presenting wide and orthogonal environmental gradients of nutrient concentration and dissolved organic carbon (DOC) concentration and origin.

2. Although we found a significant relationship between chlorophyll *a* and total phosphorus and nitrogen (TP and TN), a lack of relationship between nutrient concentration and both P_{POC} and P_{EOC} questions the application of the nutrient paradigm, which positively relate TP to phytoplankton biomass and productivity, in river ecosystems. Both P_{POC} and P_{EOC} were not related to DOC concentration, but showed a negative trend, significant for P_{POC} , with chromophoric dissolved organic matter (CDOM) which might be related to its light attenuating properties.

3. Photosynthesis versus irradiance experiments revealed a non-linear increase of P_{EOC} with increasing irradiance for 13 of the rivers. With pooled data from all experiments, we found a significant positive log-linear relationship (slope of 0.31) between P_{EOC} and P_{POC} production rates. Hence, percent extracellular release (PER) for all stations showed a significant inverse relationship with irradiance and total system productivity, with an average value of 11.6% at the light saturation index (E_k). Phytoplankton community acclimated to low irradiance had high P_{EOC} release rates but this result was largely explained by differences in chlorophyll *a* concentration amongst sites.

4. CDOM characterization (spectral slope coefficient and synchronous fluorescence spectra) revealed that the rivers with high biomass of phytoplankton and high P_{EOC} and P_{POC} production rates were characterized by high proportions of low aromaticity and molecular weight autochthonous-like DOC.

5. Rivers with high proportion of autochthonous-like molecules supported high bacterial production rates, which were not significantly related to nutrient concentration. When

expressed per DOC units, bacterial production indicated higher DOC bioavailability in the rivers containing high proportions of autochthonous molecules. Hence, bacterial production in rivers of different trophic status appears to be controlled by the availability of labile substrates originating from primary production.

Introduction

The metabolism, defined as the balance between net primary production and community respiration, and the productivity of temperate rivers depend mainly on carbon fluxes at lower trophic levels. Organic carbon flowing to the upper trophic levels of these ecosystems can either be newly synthesized through autotrophs photosynthesis or recycled through the heterotrophic activity of the microbial community. Thus, both algal and bacterial production constitute the basis of the two major energy pathways in the pelagic portion of aquatic ecosystems: the classical herbivorous food web and the microbial food web (Azam *et al.*, 1983). Since the production of the upper trophic levels ultimately depends on the efficiency of carbon utilization by bacteria and carbon fixation by primary producers, they can be viewed as good descriptors of overall ecosystem productivity.

Carbon fluxes in freshwater ecosystems have traditionally been studied along environmental gradients of nutrient concentration in lakes. Such studies have lead to the creation of a nutrient paradigm where lakes and reservoirs are classified from oligotrophic to eutrophic, according to their nutrient internal loading and autotrophic biomass (expressed in terms of total phosphorus and chlorophyll *a* concentration) (Carlson, 1977). However, as pointed out by Williamson *et al.* (1999), the nutrient paradigm only focuses on one of many characteristics of aquatic systems: the nutrient limitation of productivity. Although such classification has been adapted to river ecosystems (Dodds, Jones & Welch, 1998), it is generally accepted that temperate rivers are not nutrient limited (Wehr & Descy, 2003; but see Basu & Pick, 1996 for a divergent opinion). This is especially true in anthropogenically influenced rivers where relationships between nutrient concentration and phytoplankton biomass are weak (Reynolds, 1988; 1995). Hence, a better understanding of the mechanisms regulating carbon fluxes through phyto- and bacterioplankton in these systems is required. The addition of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) – the light-absorbing fraction of total dissolved organic matter (DOM) – to the nutrient paradigm as recently

been proposed by Williamson *et al.* (1999) to enhance the comprehension of ecosystem structure and functioning.

Dissolved organic carbon (DOC) accounts for the largest pool of organic matter in aquatic systems. It is well recognized as a key structural component of lakes and rivers through its multiple effects at the physical, chemical and biological scales (Wetzel, 2001). The absorption of solar radiation by CDOM, which increases exponentially with decreasing wavelength, is one of its most important characteristics since it regulates the underwater light climate of any given water body (Kirk, 1994), potentially altering primary production (Carpenter *et al.*, 1998; Markager & Vincent, 2000) and the distribution of organisms (Roy, 2000). DOC can also significantly change nutrient bioavailability through its capability to form chemical bonds with inorganic phosphorus and iron (Francko & Heath, 1982). Finally, DOC is an important carbon source for aquatic food webs (Azam *et al.*, 1983). The efficiency of the microbial food web to use this organic carbon source will depend on its bioavailability, often described in terms of molecular weight, which in turn can affect the overall ecosystem productivity.

The chemical composition of DOC is highly variable and is largely influenced by its origins (Findlay & Sinsabaugh, 2003). On the one hand, autochthonous DOC results from *in situ* primary production and is characterized by a high proportion of low to medium molecular weight compounds. On the other hand, allochthonous DOC originates from the catchment's vegetation and is mainly characterized by high molecular weight humic substances. The potential effects of DOC on aquatic systems largely depend on its chemical composition since both these natural sources alter the physical, chemical and biological environment at different magnitudes. Allochthonous DOC has a greater impact on underwater light penetration and nutrient availability than autochthonous DOC due to its colored nature and bonding characteristics. However, autochthonous DOC is more likely to activate the microbial food web and fuel the carbon demand of higher trophic levels due to its higher bioavailability. The magnitude and the proportion of these sources vary widely among different systems, and are dependant on the mechanisms

regulating the release and the transformation of autochthonous and allochthonous DOC into the systems.

Watershed land use affects the vegetation type in the catchments, which ultimately influences the amount of nutrients and DOC exported to the river systems via runoff and stream inflows. Similarly, temperature, precipitations and annual runoff are expected to affect the concentration of allochthonous DOC and nutrients in rivers (Kortelainen *et al.*, 2004). In rivers, water residence time is likely to affect the concentration of humic substances since it regulates the time to which the DOC pool is exposed to internal processes such as microbial removal and photodegradation. The utilization of allochthonous carbon by the microbial community leads to a transformation and/or removal of this DOC. Microbial utilization is closely linked to the action of solar radiation, which breaks down DOC molecules into smaller ones through photo-oxidative reactions, consequently increasing its bioavailability (Wetzel, Hatcher & Bianchi, 1995; Moran & Zepp, 1997).

The role of phytoplankton as a source of autochthonous DOC has received increasing attention in the last two decades and phytoplankton exudates are now recognized as a significant source of autochthonous carbon in aquatic systems (Baines & Pace, 1991). The release of extracellular organic carbon (EOC) by phytoplankton is suggested to either be a passive diffusion of organic molecules across cell membrane (Bjørnsen, 1988) or an active mechanism to prevent uncoupling between photosynthetic carbon uptake and cell growth (Berman-Frank & Dubinsky, 1999; Wood & Van Valen, 1990). Under high light and/or nutrient limitation conditions, carbon uptake by photosynthesis might exceed the carbon requirement of phytoplankton cells (respiration and cell growth), creating an extra carbon pool that has to be eliminated to prevent cell damage. This autochthonous carbon is recognized as a source of labile substrates supporting bacterial growth (Cole *et al.*, 1982).

This study documents the mid-summer bacterial and phytoplanktonic productivity of 15 Canadian temperate rivers. The rivers span broad and orthogonal ranges in trophic status

(nutrient concentration) and DOC composition. The main objectives of this study were to 1) compare the controlling role of nutrients and light attenuation by DOC in carbon fixation and extracellular release by phytoplankton, 2) evaluate the quantities and the proportion of carbon allocated to fixation and extracellular release by phytoplankton, and 3) evaluate their impacts on DOC quality and bacterial production.

Material and methods

Study sites and sampling

This study took place in 15 rivers selected according to their nutrient and DOC concentrations. No significant correlation exists between the nutrient concentration and the DOC level of these rivers; this experimental framework thus represents an ideal context to study the relationships between nutrients, DOC and productivity. All the rivers are located in Québec (Canada) and are part of the hydrographic regions composed of either 1) the des Envies River and its tributaries (Fig. 1a), or 2) the fluvial Lake Saint-Pierre and its tributaries (Fig. 1b). All the sampling sites are influenced by human activities (agriculture, urbanism, forestry) at different magnitudes, which is likely to affect their trophic status and DOC composition (Table 1). A more detailed description of the fluvial lake Saint-Pierre can be found elsewhere (Frenette, Arts & Morin, 2003). Discharge rate values were obtained from literature (Morin & Bouchard, 2000; Campeau *et al.*, 2005).

The 15 rivers were sampled once between 7 July and 8 August 2003. For each river, sampling occurred between 8:30 and 10:00 am to minimize diurnal variation in maximum photosynthesis. Water temperature was similar (mean = $22.3^{\circ}\text{C} \pm 2.0$ SD) between stations and throughout the study period (Table 1). At each station, underwater irradiance was recorded (see below) and subsurface waters (~ 30 cm) were sampled for 1) the analysis of the particulate and dissolved components of water, and 2) phytoplankton and bacterioplankton production measurements. The water column was well mixed as indicated by temperature profiles (see spectral profiles measurement, data not shown). Samples were kept in polyethylene bottles and stored cold in the dark until filtration, within 3 hours of the sampling time.

Spectral profiles, diffuse vertical attenuation coefficients and beam attenuation coefficient

A spectroradiometer (Biospherical Instruments Inc., model PUV-2545) was used to measure water temperature and the cosine-corrected downwelling underwater irradiance $E_d(\lambda)$ in the visible light spectra (PAR: 400-700 nm). The instrument was slowly lowered through the whole water column and data were recorded simultaneously for each wavelength at a 15 Hz frequency. Data were corrected by subtracting the “dark irradiance values” (obtained when the instrument was fitted with a light-tight neoprene cap at *in situ* temperature) from the $E_d(\lambda)$ values. Diffuse vertical attenuation coefficients $K_d(\lambda)$ were calculated by linear regression of the natural logarithm of $E_d(\lambda)$ versus depth. The depth to which 1% of subsurface irradiance penetrated was calculated according to the following equation (Kirk, 1994):

$$Z_{1\%}(\lambda) = 4.605/K_d(\lambda).$$

The beam attenuation coefficient (Beam C) was measured throughout the water column with a transmissiometer at 660 nm (Wet Labs, model C Star). Transmittance (Tr) values were transformed into Beam C using the following equation :

$$\text{Beam C} = \frac{-1}{x \cdot \ln(Tr)}$$

where x is the path length of the transmissiometer (25 cm in this study). Beam C values at 0.4 m were obtained from smoothed values predicted using a “spline” curve (JMP 4.0, SAS Institute Inc.) from the relation of Beam C versus depth.

DIC, DOC, TP and TN

Samples for dissolved inorganic carbon (DIC), dissolved organic carbon (DOC) and chromophoric dissolved organic carbon (CDOM) were filtered immediately after collection through Milli-Q rinsed (50 ml) 0.22 μm Millipore Isopore membranes and stored in the dark at 4°C until analysis. DOC and DIC concentrations were respectively determined by sodium persulfate oxidation and reaction with phosphoric acid (APHA, 1998). Water samples for total phosphorus (TP) and total nitrogen (TN) were stored in

the dark at 4°C until analysis, within 2 weeks of sampling date. Concentrations of TP and TN were respectively measured by spectrophotometric determination of phosphate after digestion with potassium persulfate and as nitrates after alkaline persulfate digestion (APHA, 1998).

CDOM and carbon origin

We used 3 methods to evaluate the autochthonous and allochthonous origin of DOC. First, we used the absorption coefficient of the CDOM (a_{CDOM}) as an index of water color. CDOM absorption spectra were measured at room temperature in 1 cm acid cleaned quartz cell at 1 nm intervals between 290-900 nm using a spectrophotometer (Shimadzu UV-2401) referenced against 0.22 μ m Isopore membrane filtered Milli-Q water. We used absorbance at 690 nm (where the temperature dependency is near zero) to correct the UV-absorption values (Laurion *et al.*, 2000). Absorbance values at 340 nm were converted to absorption coefficient (a_{CDOM}) using the following equation (Kirk, 1994):

$$a_{CDOM\lambda}(m^{-1}) = 2.303 \cdot A_{\lambda}/L$$

where A_{λ} is the optical density at wavelength λ and L the cuvette path length. Since the color of filtered waters is mainly related to its humic substances content, samples with high a_{CDOM} value were considered as more allochthonous.

Secondly, we estimated a slope parameter from the DOC absorption spectra according to the formula proposed by Stedmon, Markager & Kaas (2000) :

$$a_{\lambda} = a_{\lambda_0} e^{-S(\lambda_0 - \lambda)} + K$$

where S = the slope of the non-linear fit between the absorption coefficient and wavelength, a_{λ} = the absorption coefficient at the wavelength λ , a_{λ_0} = the absorption coefficient at a reference wavelength λ_0 (λ_0 = 375 nm in this study), and K = background parameter used to minimize changes in S related to CDOM concentration (Markager & Vincent, 2000). The spectral slope coefficient is a parameter that shows how efficiently CDOM absorbs light as a function of wavelength and it is related to the nature of the CDOM chromophores (Blough & Del Vecchio, 2002). The value of the slope parameter

is inversely proportional to the molecular weight of the molecules in the DOC pool (Stedmon & Markager, 2001; Stabenau & Zika, 2004). Hence, small S values are more related to allochthonous humic DOC.

Finally, we used the fluorescence properties of CDOM to characterize the proportion of autochthonous or allochthonous material in DOC (Mobed *et al.*, 1996). Synchronous fluorescence spectra (SFS) were recorded with a Cary Eclipse spectrofluorometer. The instrument was used in the synchronous mode with a slit width of 5 nm on both the excitation and emission side and a difference of 14 nm ($\delta\lambda$) between both light beams (excitation range: 200-650 nm). This setting was found by others to be optimal for resolving differences in CDOM between sources and to minimize the overlap between CDOM peaks and the Raman water peak (Belzile, Gibson & Vincent, 2002). SFS were corrected for the inner-filter effect according to McKnight *et al.* (2001). Briefly, we used the absorption coefficients (see above) to correct SFS for the absorbance of the excitation and emission beams within the sample. The absorbance of excitation light (A_{EX}) was calculated as the absorption coefficient multiplied by 0.5 cm; the absorbance of emission light (A_{EM}) was calculated similarly. The corrected fluorescence intensity (I_{CORR}), expressed in arbitrary units (AU), was calculated by this relationship :

$$I_{CORR} = \frac{I_{OBS}}{10^{-A_{EM}} + 10^{-A_{EX}}}$$

where I_{OBS} is the recorded fluorescence intensity. The proportion of autochthonous matter in a sample (% auto) was calculate as

$$\% \text{ auto} = \frac{\int_{\text{auto}}}{\int_{\text{auto}} + \int_{\text{allo}}} \times 100$$

where the region between 265-305 nm correspond to autochthonous-like matter (auto) and the region between 305-405 nm correspond to allochthonous-like matter (allo).

Chlorophyll *a* determination

Duplicate water samples were vacuum filtered on 25 mm Millipore glass fiber filters (1.0 μm pore size) and stored in the dark at -20°C until pigment concentration was

determined. Chlorophyll *a* (Chl *a*) concentration was measured with a spectrophotometer (Shimadzu UV2401) following extraction in hot ethanol (95%) according to Nush (1980).

P vs E experiments

Rates of carbon fixation (P_{POC}) and release (P_{EOC}) by phytoplankton were measured by the ^{14}C technique (Steemann-Nielsen, 1952). For each station, 50 ml subsamples were dispensed in two sets of 70 ml polystyrene culture flask (10 clear and 2 dark covered with aluminium foil). These rectangular flat plastic containers were used to minimize bottle effects due to light refraction (Frenette *et al.*, 1993). Each incubation bottle was inoculated with $NaH^{14}CO_3$ at a final concentration of $0.1 \mu Ci\ ml^{-1}$. Immediately after inoculation, three 1 ml subsamples were taken from each set of dark bottles and put in scintillation vials containing 1 ml of ethanolamine for the determination of ^{14}C specific activity.

A radial linear incubator, similar to Babin, Morel & Gagnon (1994), was used for the phytoplankton incubations. Phytoplankton samples were incubated for 1.5 h under artificial light (Optimarc 250 W, high pressure sodium lamp) at irradiance ranging from 996 to 61 and $7 \mu mol\ quanta\ m^{-2}\ sec^{-1}$ depending on stations. PAR scalar irradiance was measured in each incubation bottle prior to incubation with a scalar PAR irradiance sensor (Biospherical Instruments Inc., model QSL-2100). Water was thermostatically controlled throughout incubation time to simulate *in situ* temperature. After incubations, 2 subsamples of 3 ml were removed from each bottle for the determination of total fixed organic carbon (P_{TOC}) and extracellular organic carbon (P_{EOC}). P_{TOC} subsamples were placed in scintillation vials and acidified with 0.5 ml of 6 N HCl (Roux *et al.*, 2002). P_{EOC} subsamples were carefully filtered through $0.2 \mu m$ syringe membrane filter (FisherBrand) in scintillation vials and acidified as with P_{TOC} samples. The remaining volume of sample (44 ml) was vacuum-filtered onto $1.0 \mu m$ 25 mm Millipore glass fibre filters for the determination of photosynthetically fixed particulate organic carbon (P_{POC}). Filters were placed in scintillation vials and acidified with 0.2 ml of 0.5 N HCL (Lean & Burnison, 1979). P_{TOC} , P_{POC} and P_{EOC} samples were left open for 24 h in a hood to

eliminate unfixed inorganic ^{14}C . Ten ml of Universol ES cocktail were added to P_{TOC} , P_{EOC} and P_{POC} samples. All samples were then counted on a liquid scintillation counter (Wallac, model 1409), the counts being corrected for quenching by external standards. The percent extracellular release (PER) was calculated as :

$$\text{PER} = \frac{P_{\text{EOC}}}{(P_{\text{POC}} + P_{\text{EOC}})} \times 100.$$

Since the minimal irradiance used for the primary production incubations ranged from 7 to $61 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$, we used the PER at the light saturation index (E_k : see below) to compare release of organic carbon between stations.

The rates of carbon fixation (P_{TOC} and P_{POC}) and release (P_{EOC}) ($\mu\text{g C L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) were calculated according to standard procedure (see the JGOFS protocols, 1996 for details) and then divided by the phytoplankton biomass (referred here as the Chl *a* concentration) to obtain the Chl *a*-normalized carbon fixation and release rates in $\mu\text{g C } (\mu\text{g Chl } a)^{-1} \text{ h}^{-1}$ units. *P* vs *E* curves without photoinhibition were fitted using the least-squares non-linear models platform provided in Statistica 6 (StatSoft Inc.) according to the equation proposed by Webb, Newton & Starr (1974):

$$P = P_{\text{max}} [1 - \exp(-\alpha E / P_{\text{max}})]$$

where *P* is the photosynthetic rate at irradiance *E*, P_{max} is the maximum photosynthetic rate and α a parameter describing the light limited slope of the *P* vs *E* curve or the one proposed by Platt, Gallegos & Harrison (1980):

$$P = P_s [1 - \exp(-\alpha E / P_s)] [\exp(-\beta E / P_s)]$$

where P_s is a scaling parameter defined as the maximum, potential, light saturated photosynthetic rate, and β is the photoinhibition parameter (negative slope at high irradiance). P_{max} can later be calculated as

$$P_{\text{max}} = P_s [\alpha / (\alpha + \beta)] [\beta / (\alpha + \beta)]^{\beta / \alpha}$$

and is equivalent to P_s when $\beta = 0$ (see Frenette *et al.*, 1993 for further details). For both models, the light-saturation index (E_k ; $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) was calculated as P_{max} / α . The photosynthetic parameters of each station were estimated from the model providing the best coefficient of determination (r^2).

Bacterioplankton production

The rate of bacterial production was estimated from ^3H -leucine incorporation in Eppendorf vials (Smith & Azam, 1992; Pace *et al.*, 2004). For each station, 50 ml subsamples were dispensed in two sets of twelve 70 ml polystyrene culture flask (10 clear and 2 dark). These bottles were incubated at the same irradiance as for phytoplankton incubation. After 1.5 h of incubation, 1.5 ml subsample from each bottle was transferred in 2.0 ml Eppendorf containing ^3H -leucine (final concentration of 10 nM) and incubated at *in situ* temperature and in the same light gradient for 30 min. Then, 100% ice-cold TCA (5% final concentration) was added to each Eppendorf to stop the incorporation of leucine by bacteria. Samples were mixed and immediately centrifuged at 15000 G for 10 minutes. The supernatant in samples was carefully removed using an automatic pipette. The next manipulations included similar centrifugation and supernatant removal after the addition of 1 ml of a) 5% ice-cold TCA and b) 80 % ice-cold ethanol. Samples were left open for 24 h in a fume hood before 1 ml of Universol ES scintillation cocktail was added. All samples were then counted on a liquid scintillation counter (Wallac, model 1409), the counts being corrected for quenching by external standards. A factor of $3.1 \text{ Kg C mol}^{-1}$ was used to convert protein synthesis in carbon production rate (Kirchman, 1993).

Results

Total phosphorus and nitrogen, dissolved organic carbon and light climate

The rivers were selected in order to cover a wide range in nutrients and DOC concentration. Physical and chemical characteristics of the sampling sites covered range typical of anthropogenically influenced north temperate rivers (Table 1). TP concentration varied widely between sites (Table 1; 7.9 - 93.2 $\mu\text{g L}^{-1}$) and correlated well with watershed agricultural land use ($r = 0.74$, $p < 0.05$). According to the trophic state index for streams proposed by Dodds *et al.* (1998), the sampling sites ranged within an oligo- to eutrophic gradient. Similarly, sub-surface chlorophyll *a* concentration varied greatly, ranging from 1.4 to 34.9 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Table 1). Again, these data classified the sampling site from oligo- to eutrophic. We found a positive linear relationship between TP and Chl *a* (Table 2, Eq. 1: $r^2 = 0.43$; $p < 0.01$). As with TP, TN also varied widely between sites, ranging from 1.49 to 0.26 mg L^{-1} (Table 1). The selected sites also covered a wide range in mean annual discharge rates (Table 1), but showed no correlation with Chl *a*, TP, and TN concentrations.

The DOC concentration in the rivers we sampled ranged from 4.3 to 10.3 mg L^{-1} and covered a wide gradient of water color with *a*CDOM ranging from 4.3 to 28.8 m^{-1} (Table 1). We used fluorescence (% auto) and absorbance (S) properties of the DOC to characterize its origin. In this study, the autochthonous fraction of the fluorescent DOC pool (% auto) ranged from 7.2 to 30.6 % of the total fluorescence (Table 1). Similarly, S ranged from 0.0164 to 0.0205 μm^{-1} . We found a significant positive correlation between % auto and S ($r = 0.69$; $p < 0.01$). Both of these variables were negatively correlated to *a*CDOM ($r = -0.80$; $p < 0.001$ and $r = -0.73$; $p < 0.01$ respectively) and negatively related to DOC at a lesser extent ($r = -0.67$; $p < 0.01$ and $r = -0.28$; $p = 0.30$ respectively). As stated earlier, we found no significant relationship between the TP of the sampling site and their DOC concentration and origin (Fig. 2).

Since solar radiation attenuation in water is largely attributed to DOC concentration and composition, the rivers we sampled presented various light climates, with diffuse attenuation coefficient of PAR ranging from 0.8 to 8.3 m⁻¹. Variations in PAR diffuse attenuation coefficient were mainly related to changes in CDOM content between sites but were also significantly related to changes in particles concentration with semi-partial correlation coefficient of 60.1 and 20.6% for *a*CDOM and Beam C respectively ($r^2 = 0.81$; $p < 0.01$).

P vs E curves

Representative P vs E curves obtained from P_{POC}, P_{TOC} and P_{EOC} data are shown in Figure 3a (production rates are not normalized by Chl *a* biomass). Whereas P_{POC} and P_{TOC} similarly showed the typical strong nonlinear response with increasing irradiance for all 15 cases, the response of P_{EOC} was weaker but also suggested a non-linear increase of the release rate with increasing irradiance (Fig. 3a). This non-linear response of P_{EOC} was found in 12 out of 15 cases, the other one being more constant over experimental irradiance. The non-linear fit of P_{POC} data gave pretty good fits, with $r^2 > 0.90$ for 9 of 15 cases, the other 6 being > 0.75 . Platt *et al.* (1980) model was used in 9 of 15 cases to slightly improve the fit of the carbon fixation curves. However, we found no significant decrease in carbon fixation with increasing irradiance, suggesting no or very little photoinhibition for the irradiance and incubation time used in this study. We obtained slightly lower r^2 with P_{TOC} data. For most cases (11 out of 15), we were able to fit Webb's equation to P_{EOC} data to obtain P_{max EOC} and P_{max EOC}^b. Since P_{EOC} data were much variable over irradiance, we obtained low r^2 values (range 0.1 – 0.7) but the predictions of the parameters α_{EOC} and P_{max EOC} were significant ($p < 0.01$).

P_{POC} production rates increased more rapidly than P_{EOC} release rates did with increasing irradiance. As a result, α estimated from P_{POC} curves are constantly higher than those estimated from P_{EOC} curves ($\alpha_{POC}/\alpha_{EOC}$ ranging from 1.2 to 36.2). These variations in α correspond to an exponential increase of PER with decreasing irradiance (Fig. 3b).

Although quite variable in magnitude, the trend of exponentially increasing PER with decreasing irradiance was observed in all cases.

The descriptive statistics of P_{POC} production and P_{EOC} release rates can be found in Table 3. $P_{\text{max POC}}$ varied widely across the environmental gradient ranging from 2.09 to 783.94 $\mu\text{g C L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Table 3). The light-saturated release rates of EOC ($P_{\text{max EOC}}$) also varied greatly, ranging from 0.56 to 11.60 $\mu\text{g C L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Table 3). $P_{\text{max TOC}}$ values were significantly higher than corresponding $P_{\text{max POC}}$ (Wilcoxon matched pairs test: $p < 0.01$), $P_{\text{max TOC}}$ being on average $9.9\% \pm 10.3 \text{ SD}$ higher than $P_{\text{max POC}}$. The highest production rates were found in the Nicolet and Yamaska rivers, which are the rivers most severely impacted by human activities (Table 1). Similarly, $P_{\text{max POC}}^b$ and $P_{\text{max EOC}}^b$ ranged from 1.06 to 51.11 $\mu\text{g C } (\mu\text{g Chl } a)^{-1} \text{ h}^{-1}$ and from 0.13 to 3.11 $\mu\text{g C } (\mu\text{g Chl } a)^{-1} \text{ h}^{-1}$ respectively (Table 3). The light saturation index (E_k) ranged between 42.4 and 299.7 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ but was generally over 100 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ (mean $184 \pm 80 \text{ SD}$) (Table 3).

We compared our measured P_{TOC} values with the sum of P_{POC} and P_{EOC} to evaluate the reliability of our P_{EOC} measurements. We found a strong linear relation between measured P_{TOC} and calculated P_{TOC} although the sum of P_{POC} and P_{EOC} tends to be $6.1\% \pm 28 \text{ SD}$ higher than measured P_{TOC} (paired t test; $p < 0.001$). The regression line of this linear relation tends to fall over and under the 1:1 line at low and high productivity respectively.

Sub-surface Chl a concentration was positively related and explained a significant proportion of the variation in $P_{\text{max POC}}$ and $P_{\text{max EOC}}$ (Table 2, Eq. 2 and 3: $r^2 = 0.63$; $p < 0.001$ and $r^2 = 0.33$; $p < 0.05$ respectively). $P_{\text{max POC}}$ was positively related to TP and TN, but the relationships were weak and non-significant at the 5% level ($p = 0.06$ and $p = 0.12$ respectively). Similarly, $P_{\text{max POC}}^b$ was not significantly related to TP ($p = 0.6$) and TN ($p = 0.6$). We found no relationship between $K_d \text{ PAR}$ and neither $P_{\text{max POC}}$ ($p = 0.6$) nor $P_{\text{max EOC}}$ ($p = 0.8$), but a significant negative relationship was found between $P_{\text{max POC}}$

and $a\text{CDOM}$ (Table 2, Eq. 4: $r^2 = 0.31$; $p < 0.05$) which accounted for 60% of light attenuation in the rivers.

Proportion of extracellular release

The importance of extracellular release over total primary production varied widely between rivers. The descriptive statistics of PER are presented in Table 2. Since the minimal irradiance used for different station varied from 61 to 7 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$, we used the PER at the light saturation index (E_k) to compare relative organic carbon release between stations. At E_k , PER ranged from 0.8 to 39.0 % of total organic carbon fixed by phytoplankton (mean = 11.6 % \pm 12.0 SD).

In this study, both absolute (P_{EOC}) and relative (PER) release were closely related to carbon fixation. We observed a positive linear relationship between P_{POC} and P_{EOC} (Fig. 4a; Table 2, Eq. 5: $r^2 = 0.61$; $p < 0.0001$). The regression line of this relation has a slope of 0.31 that falls under the 1:1 line, indicating that a greater proportion of the total primary production is found in the particulate compartment and that P_{EOC} values have a greater relative importance at low primary production. A similar relationship between $P_{\text{max EOC}}$ and $P_{\text{max POC}}$ with a slope of 0.29 is observed across rivers ($r^2 = 0.71$; $p < 0.001$). Likewise, we observed a negative exponential relationship between PER and P_{POC} (Fig. 4b) showing a higher proportion of EOC with lower irradiance. A similar relationship is obtained if we plot PER at E_k over $P_{\text{max POC}}$ (data not shown).

Although we did not find any significant relationship between the diffuse attenuation coefficients of PAR and $P_{\text{max POC}}$ or $P_{\text{max EOC}}$, we found a positive linear relationship between $P_{\text{max EOC}}$ and both α (Fig. 5; Table 2, Eq. 6: $r^2 = 0.68$; $p < 0.001$) and E_k ($r^2 = 0.38$; $p < 0.05$). However, $P_{\text{max EOC}}^b$ showed a insignificant negative trend with α ($p = 0.07$). $P_{\text{max POC}}$ was positively related to α and E_k during this study ($r^2 = 0.92$; $p < 0.0001$ and $r^2 = 0.93$; $p < 0.01$ respectively).

Primary production dynamics and DOC composition

We measured important variations of DOC composition (autochthonous and allochthonous origin) between the rivers we sampled. We did not find any significant relationships between the origin of DOC and Chl *a* concentration in rivers ($p = 0.5$). However, significant positive relationships were found between the autochthonous origin of DOC and $P_{\max \text{ POC}}$ (Fig. 6a and b; Table 2, Eq. 7 and 8: $r^2 = 0.39$; $p < 0.01$ and $r^2 = 0.41$; $p < 0.01$ for S and % auto respectively). Hence, as phytoplankton production increases in rivers, molecules with decreasing molecular weight and aromaticity characterize the pool of absorbing and fluorescent DOC. If we use the maximum release rates of EOC ($P_{\max \text{ EOC}}$) as the explanatory variable of DOC composition, the relation remains significant with S ($r^2 = 0.38$; $p < 0.05$). There is also a clear relationship between $P_{\max \text{ EOC}}$ and % auto but the regression line of this relation is not significant due to 3 outliers (if we remove the outliers: $r^2 = 0.86$; $p < 0.0001$).

Bacterial production and DOC origin

Overall, bacterioplankton production ranged from 19.0 to 200.9 $\mu\text{g C L}^{-1} \text{ h}^{-1}$. The highest rates were found in the Saint-François and Yamaska Rivers and in the upstream section of Lake Saint-Pierre. Bacterial production in this study was neither related to TP ($p = 0.26$), nor to DOC concentration ($p = 0.87$). We found a significant positive relationships between the bacterial production rate and the composition of the DOC pool as measured by S (Fig. 7a; Table 2, Eq. 9: $r^2 = 0.31$; $p < 0.05$) and % auto ($r^2 = 0.36$; $p < 0.05$). Moreover, when normalized by DOC concentration to obtain an index of bioavailability, bacterial production was found to be significantly related to S (Fig. 7b; Table 2, Eq. 10: $r^2 = 0.35$; $p < 0.05$). The relationship between bacterial production and the autochthonous fraction of DOC is greater if we relate BP to $P_{\max \text{ EOC}}$ (Fig. 8; Table 2, Eq. 11: $r^2 = 0.49$; $p < 0.05$).

Discussion

The nutrient paradigm and its application in river ecology

The classification of ecosystems by trophic status is a common procedure in lakes research where strong empirical relationships relate phytoplankton biomass to total phosphorus concentration ($r^2 = 0.64 - 0.95$; Dillon & Rigler, 1974; Riley & Prepas, 1985). In this river study, we found a positive linear relationship between TP and Chl *a* (Table 2, Eq. 1: $r^2 = 0.42$; $p < 0.01$). Phytoplankton biomass is sometimes found to correlate to nutrient concentration in rivers ($r^2 = 0.15 - 0.43$; Soballe & Kimmel, 1987; Moss *et al.*, 1989; Basu & Pick, 1995; Basu & Pick, 1997). The results of these studies, including ours, differ from the strong relationship between algal biomass (Chl *a*) and TP concentration ($7 - 96 \mu\text{g L}^{-1}$) found by Basu & Pick (1996) for a set of 31 large temperate rivers ($r^2 = 0.76$; $p < 0.001$). This strong relationship differs from the weaker relationships usually found in rivers and rather correspond to typical results from lake studies. This unusual situation is likely due to the restricted size range of the sampled rivers (fifth order or larger, mean annual discharge $> 8 \text{ m}^3 \text{ sec}^{-1}$) which does not take into account the smaller order rivers and corresponding low annual discharge.

Although changes in phytoplankton biomass can be explained by variation in the concentration of nutrients, there are actually very few studies demonstrating strong dependence of algal growth upon TP in rivers (Reynold & Descy, 1996, Wehr & Descy, 1998). In this study, both $P_{\text{max POC}}$ (Table 2, Eq. 2: $r^2 = 0.63$; $p < 0.001$) and $P_{\text{max EOC}}$ (Table 2, Eq. 3: $r^2 = 0.33$; $p < 0.05$) showed significant relationship with Chl *a*. However, despite a positive trend, TP was a poor predictor of phytoplankton photosynthesis since the relationships between TP and both $P_{\text{max POC}}$ (positive trend) and $P_{\text{max POC}}^b$ were non-significant ($p = 0.06$ and 0.6 respectively). Similar results are obtained with TN ($p = 0.12$ and 0.6 for $P_{\text{max POC}}$ and $P_{\text{max POC}}^b$ respectively). Hence, much of the variation in phytoplankton photosynthesis and extracellular release is explained by phytoplankton biomasses, which covary with nutrient concentration. Owing to the lack of relationship between $P_{\text{max POC}}^b$ and TP, nutrients do not appear to control the maximum

rate of photosynthesis for phytoplankton in these rivers. Since nutrients in rivers are often in considerable excess of phytoplankton requirement, Reynolds (1988; 1995) proposed that models based on nutrient resource ratios are not applicable in most rivers and that algal abundance and productivity is mainly controlled by discharge. In this study, we failed to explain phytoplankton biomass and production by the discharge rate of the rivers. To carefully relate phytoplankton to discharge, phytoplankton biomass and discharge rates should have been measured on a time period covering major hydrodynamic events.

The generalization of the nutrient paradigm seems less appropriate in rivers than in lakes. In rivers, multiple variables ultimately related to hydrology are likely to affect the relationships between TP and both Chl *a* and phytoplankton photosynthesis. To carefully relate Chl *a* to TP, one needs to understand the gains (production, advection) and losses (flushing by discharge, respiration, grazing) of biomass. River phytoplankton is constantly exposed to stochastic variations in water level and discharge due to precipitation or the lack of, which leads to unpredictable changes in biomass caused by periods of intensive growth punctuated by washouts. Hence, the application of the nutrient paradigm to rivers may depend largely on hydrodynamic forcing. A significant part of the relationship between Chl *a* and TP might be explained by covariation between both variables due to hydrologic transport. This would be even truer in meso- and eutrophic rivers where phytoplankton might represent a large fraction of TP. Furthermore, river environment selects for fast growing species able to cope with wide variations in light conditions (Wehr & Descy, 1998), which is related to hydrology through turbidity. In this study, 20% of the variation in K_d PAR is explained by Beam C.

Williamson *et al.* (1999) proposed that the addition of DOC characteristics to the nutrient paradigm could enhanced the comprehension of aquatic productivity. DOC is poorly correlated to P_{\max} POC ($p=0.9$) and P_{\max} EOC ($p=0.9$) in this study. However, a negative relationship was found between P_{\max} POC and a CDOM (Table 2, Eq. 4: $r^2 = 0.31$; $p < 0.05$) even if a lack of relationship is observed between a CDOM and Chl *a* ($p = 0.7$).

Hence, in a cross system analysis where DOC contains various amount of humic substances, CDOM is a better descriptor of light environment than DOC.

P vs E experiments

If the non-linear response of P_{POC} and P_{TOC} production rates over experimental irradiance is a known property of algal photosynthesis, the response of P_{EOC} is far less understood. During most of our experiments (12 out of 15), P_{EOC} showed a non-linear increase with increasing irradiance which was similar to P_{POC} and P_{TOC} production dynamics (Fig. 2a). Given the non-linear nature of this relation in our study, we were able to fit the Webb's equation of photosynthesis to P_{EOC} data for most of the stations we sampled. For the remaining 3 stations, P_{EOC} was found to be more constant over the range of experimental irradiance.

Non-linear increases of EOC release rate with increasing irradiance have been found by others (Giroldo & Vieira, 1999; Lee & Rhee, 1999; Puskaric & Mortain-Bertrand, 2003). Constant release rates with increasing irradiance were also reported in literature (Morán & Estrada, 2001). However, these results, including ours, contradict those of Marañón *et al.* (2004) who recently found in a coastal eutrophic system Chl *a*-specific EOC release rates relatively constant at intermediate and high irradiance but increased at irradiance below 200-300 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$. On a diffusion basis, they proposed that their results were consistent with published works indicating that the relative C incorporation into small-molecular-weight metabolites increases under low irradiance as a result of a slowdown in macromolecular synthesis (Marañón & González, 1997).

The photosynthetic processes whereby phytoplankton synthesizes organic content are not 100% efficient. Berman-Frank & Dubinsky (1999) hypothesized that both nutrients and light stress might result in extracellular release of photosynthates. EOC is hence proposed as a consequence of an uncoupling between inorganic carbon fixation and algal cell growth. These exudates are a surplus of photosynthesis under situations of inorganic nutrient limitation, and it is proposed that the amount of exudates increases with high

light irradiance and/or low nutrient availability. The non-linear increase of P_{EOC} with increasing irradiance we observed agree with this hypothesis. However, changes in phytoplankton biomass during the incubation might also have happen as a result of higher production with increasing irradiance. This would hence favor a higher diffusion of photosynthates at high irradiance. Other potential factors responsible for the release of EOC during our experiments include grazing and viral infections. However, the small incubation volume (50 ml) and the short incubation time (1 h 30 min) used in this study minimize the impact of such factors.

In our rivers, $P_{max\ POC}$ and $P_{max\ EOC}$ (Table 2) were similar to the rates presented by Baines & Pace (1991) in the freshwater section of their meta-analysis (mainly constituted of temperate lakes). However, all our $P_{max\ EOC}$ results were lower than the values measured by Descy *et al.* (2002) in the eutrophic River Meuse. Only the Nicolet and Yamaska rivers, with their extremely high photosynthetic rates ($\sim 750\ \mu\text{g C L}^{-1}\text{ h}^{-1}$), reached the minimal values reported by Descy *et al.* (2002). The Yamaska and Nicolet rivers are both severely influenced by agricultural activities (Table 1). The Yamaska River is also known for its high nutrient loading and phytoplankton biomass (Frenette *et al.*, 2003). Chl *a*-normalized maximum photosynthetic rates were within the range expected along a nutrient gradient (Keller, 1988) (Table 2).

In every experiment, we observed a clear relationship between PER and irradiance, with consistently higher PER at low irradiance (Fig. 3b). This indicates that on a relative basis, limiting light conditions are associated with the highest proportion of carbon excreted relative to carbon assimilated during phytoplankton photosynthesis. These results are consistent with other published works (Morán & Estrada, 2001; Descy *et al.*, 2002; Puskaric & Mortain-Bertrand, 2003; Marañón *et al.*, 2004) and emphasize the critical importance of irradiance in the dynamics of carbon partitioning between particulate and dissolved primary production. This relationship is likely related to a much faster increase of P_{POC} than P_{EOC} production rate with increasing irradiance. For instance, the slope of the linear portion (α) of the P_{POC} and P_{EOC} P vs E curves are respectively 3.4 and $0.1\ \mu\text{g C} (\mu\text{g Chl } a)^{-1}\text{ h}^{-1}$ for station 19. According to our results,

and as pointed out by Moran & Estrada (2001), the estimation of EOC release in ecosystems could be overestimated if incubations are done with suboptimal irradiance ($< E_k$). Under these irradiances, photosynthesis is light-limited and extracellular release represents a higher proportion (up to 60% in this study) of recently fixed carbon. Hence, the knowledge of the photosynthetic performance of phytoplankton community is needed to carefully address the significance of P_{EOC} to carbon cycling in aquatic environment.

Zlotnik & Dubinsky (1989) found experimental evidence of an increased PER at high irradiance as a result of photoinhibition (decrease in P_{POC}) and increased EOC release rate. However, we did not find an increased PER at high irradiance in any of our samples. This result is consistent with the very low or lack of photoinhibition (photosynthetic parameter β) found during this study.

Photosynthesis and carbon partitioning between particulate and extracellular organic carbon

When comparing P_{TOC} measurements to the sum of P_{POC} and P_{EOC} (calculated P_{TOC}), we found that calculated P_{TOC} tended to be on average 6.2% higher than measured P_{TOC} . This is especially true for the low productivity samples, suggesting that P_{EOC} or P_{POC} could be overestimated. This could be the result of the filters used for the P_{POC} measurements, since EOC tends to adsorb to glass fiber filters (Maske & García-Mendoza, 1994), hence enhancing P_{POC} values. In our productive rivers, the difference between calculated P_{TOC} and measured P_{TOC} decrease as primary productivity increases, suggesting that the quantity of EOC adsorbing to filters becomes less significant as the quantity of P_{POC} retained by the filter increases. Also, the measurement of radioactivity in P_{EOC} samples is subjected to potential error due to heterotrophic removal of EOC (Wiebe & Smith, 1977; Lancelot, 1979; Lignell, 1990) which increases with incubation time (Morán & Estrada, 2002). Since our incubation time was relatively short (1.5 h), we are confident that our results approximate the *in situ* P_{EOC} , although time-course data would have provided more accurate data.

Within each individual station as well as when all the samples from every stations are pooled together, P_{EOC} was closely and positively correlated to carbon fixation (P_{POC}). This result agrees with several other published works (Feuillade, Dufour & Feuillade, 1988; Zlotnik & Dubinsky, 1989; Morán & Estrada, 2002) but slightly differs from the conclusions of Baines & Pace (1991) who found that P_{EOC} increased with primary production to a certain level after which it remained constant. They proposed that a shift in the limiting nutrient (from P to N) with increasing productivity could explain this result since there is evidence that phosphorus limitation may stimulate more excretion than does nitrogen (Mykilestad, 1977). We did not observe this trend in our study. The Yamaska and Nicolet rivers (our two most productive sites) have agriculture-dominated watersheds (Table 1) and did not show any evidence of strong nutrient limitation (TN/TP = 18 and 38 mol/mol respectively) (Guilford & Hecky, 2000).

Overall, P_{EOC} were more closely correlated to P_{POC} than they were to Chl *a*-normalized P_{POC} and Chl *a* biomass. This result is generally interpreted as an evidence of an active release of photoproducts from an internal pool, which ultimately depend on carbon fixation in the particulate fraction (P_{POC}) (Baines & Pace, 1991; Morán & Estrada, 2002). Recently, Marañón *et al.* (2004) criticized such conclusions on the basis that regardless of the release mechanism involved, some degree of relationship between P_{POC} and P_{EOC} has to be expected since the ^{14}C -technique only measure the release of molecules containing recently fixed ^{14}C . They presented data of increased P_{EOC} at suboptimal irradiance, which they interpreted as evidences of the passive diffusion hypothesis. On the basis of this criticism, the facts that P_{EOC} increases with increasing irradiance in our P vs E experiments (Fig. 3a) can not be interpreted as an evidence of active release by phytoplankton. Moreover, $P_{max EOC}$ tend to increase for phytoplankton population acclimated to low irradiance (high α , more susceptible to light stress in P vs E experiments) but much of this relationship is explained by the biomass of phytoplankton since we found no significant relationship when we normalized P_{EOC} by Chl *a* biomass ($P_{max EOC}^b$) (Fig. 4b). If P_{EOC} was an overflow mechanism, we should have found increased released rates for population acclimated to low light condition and more susceptible of light stress. Hence, our data suggest that the passive diffusion hypothesis

is the most appropriate to explain the release of EOC, which is consistent with the persistent P_{EOC} presented across a wide irradiance range in multiple environment (see all cited literature). In this study, the release of EOC by phytoplankton was indistinguishable from cell lysis or sloppy feeding that would enhance the EOC content of water. Given its relationship with irradiance, we assume that most of the EOC in our incubation was derived from exudation. This assumption is supported by our short incubation time and small incubation volume which likely minimized the other potential factors responsible for P_{EOC} .

The range of PER measured in this study (Table 2) agrees with previous studies of lacustrine waters (Baines & Pace 1991; Descy *et al.*, 2002). When we pool all the samples together, the PER average value was 11.6%, which is close to the average value of 13% proposed by Baines & Pace (1991).

This study provides evidence for a decreasing contribution of dissolved primary production to total primary production rates (PER) in more productive waters. This result corroborates with the conclusions of several other studies (Moran *et al.*, 2002 and references therein) but contradicts the results of Baines & Pace (1991) in their review of DOC exudation in lacustrine and marine waters. Although they did not find this relation in their meta-analysis, the authors acknowledged that PER is often found to decrease with increasing total primary productivity. We obtained similar results if we plot mean PER at E_k for each station on $P_{max\ POC}$. Since E_k is a parameter related to the photoacclimation of the phytoplankton community, this relationship allows us to rule out the fact that the strength of the relation in Figure 3b could be the result of the differences in the lowest irradiance used across stations.

Optical variables and DOC quality

Since hydrology may compromise the utilization of state variables such as TP to assess the autotrophic productivity in rivers, variables integrating dynamic biological processes are needed to enhanced the comprehension of the productivity of theses systems.

Recently, several optical variables based on absorbance (Stedmon *et al.*, 2000) and fluorescence (Belzile *et al.*, 2002) properties of CDOM have been developed to rapidly characterize this organic matter. Hence, these variables allow limnologists to estimate the bioavailability of CDOM based on its aromaticity and molecular weight, from which we can infer origin. Since CDOM accounts for a large proportion of total DOC in fresh water (Wetzel, 2001), the use of these optical variables is justified. However, few studies have tried to link optical characterization of DOC to dynamic measurements related to DOC composition such as rates of extracellular release of organic compounds by phytoplankton.

We found in this study a close relationship between the maximum photosynthetic rates of phytoplankton (P_{\max} POC) and both optical variables (S and % auto) used to characterize the origin of DOC (Fig. 5). Although primary production rates did not allow to explain a large proportion of the variation in S and % auto ($r^2 = 0.39$ and 0.41 respectively), the relationships remained significant at the 1% level. Similar results with a lower coefficient of determination and significance level were obtained when we used P_{\max} EOC as the predictor. Hence, the state variable S and % auto describing the quality of DOC in the rivers were significantly related to rate variables such as phytoplankton maximum photosynthesis and extracellular release. According to these results, high proportion of low aromaticity and low molecular weight autochthonous-like DOC is a consequence of primary productivity. This result can also be interpreted as a decrease of primary production in environments rich in allochthonous-like DOC, the latter being known to affect photosynthesis through its light attenuating properties (Carpenter *et al.*, 1998; Markager & Vincent, 2000). However, absorbance and fluorescence only allow the characterization of the light-absorbing fraction of the entire DOC pool. This could explain why the r^2 of these relationships is low.

These optical variables can hence be considered as good integrators of dynamic processes such as primary production and release of EOC occurring within the rivers. As discussed above, the utilization of state variables such as TP to predict primary production appears less appropriate in rivers due to hydrologic forcing. Williamson *et al.* (1999) proposed a

reunification of nutrients and DOC characteristics into a more integrated paradigm to assess biological productivity of aquatic systems. Our results shows that the characterization of DOC by its origins might help to understand the functioning of a system where nutrient fails.

The autochthonous nature of DOC and bacterial production

In our study, BP was neither related to TP nor to DOC concentration. However, we found positive relationships between BP and the low aromaticity and low molecular weight autochthonous-like fraction of DOC as measured by absorption (Fig. 7a, Table 2, Eq. 9: $r^2 = 0.31$; $p < 0.05$) and fluorescence ($r^2 = 0.36$; $p = 0.039$). This relationship with the proportion of autochthonous-like molecules is slightly reinforced when we normalized BP by DOC concentration to obtain an index of bioavailability (Fig. 7b, Table 2, Eq. 10: $r^2 = 0.35$; $p < 0.05$). The correlation between bacteria and autochthonous DOC is even better when the release rate of EOC by phytoplankton is used as the predictor (Fig. 8, Table 2, Eq. 11: $r^2 = 0.49$; $p < 0.05$).

Most rivers are heavily subsidized by allochthonous organic carbon and considered as net heterotrophic systems (inputs of autochthonous carbon are inadequate to support the trophic and detrital dynamics). The utilization of allochthonous carbon by the microbial community is hence expected. Bacterial bioassay studies have provided direct evidence that certain components of the humic substances pool can be assimilated by bacteria and used for growth (Tranvik, 1990). However, abundance and production of bacterioplankton and phytoplankton have been demonstrated to covary across a large range of trophic states in freshwater habitats (Cole, Findlay & Pace, 1988). Such demonstrations support the view of bacterial dependence, either direct or indirect, on algal production as a source of organic substrates, which implies that BP may be limited by supply of labile organic carbon.

Our results indicate that primary production and extracellular release influence the DOC composition by providing a supply of low aromaticity and low molecular weight

molecules. These autochthonous-like molecules are generally considered as substrate of good quality to support BP. As an example, rivers with high proportion of autochthonous-like molecules support higher BP per DOC units. Hence, food quality for bacteria is a consequence of primary productivity, which explains why BP is directly linked to autochthonous molecules in this study.

As discussed above, unexplained proportion of the relationship between the total amount of DOC in the system (including EOC) and its chromophoric (absorbing or fluorescent) fraction may help to understand the higher coefficient of determination found for the relationship between BP and $P_{\max \text{ EOC}}$ than S and % auto. Further, the molecules used by bacteria for growth may not be the same that are measured by optical variables. It is suggested that the labile EOC supporting BP has a very rapid turnover time (Wetzel, 2001). Bacteria would take much of this carbon up as soon as it is release by phytoplankton. Labile low-molecular-weight DOC such as dissolved free amino acids (DFAA) and glucose are assimilated by bacteria (Kirchman, 2003 and references therein) and may fulfilled a large proportion of bacterial production carbon demand in freshwater habitat. Both types of molecules are part of phytoplanktonic P_{EOC} and are known to have rapid turnover time. Hence, the autochthonous-like molecules measured by absorbance and fluorescence may also include a proportion of refractory material not utilized by bacteria. This could help to explain the higher coefficient of determination found with $P_{\max \text{ EOC}}$. The short incubation time used in this study might favours minimal heterotrophic removal of freshly released labile EOC. The resulting values of $P_{\max \text{ EOC}}$ would hence be more closely related to bacterial activity.

Conclusion

This study emphasizes the importance of DOC origin and quality in river ecosystem functioning. Although phytoplankton represents the smallest biomass of primary producers in most lotic habitat, there is a significant relationship between the proportion of autochthonous-like DOC in the water and its production rate. In this study, rivers with increased autochthonous DOC signature support higher both phytoplanktonic and bacterial productivity. Algae and bacteria represent the two major sources of energy in the pelagic portion of aquatic habitats. Since the production at the higher trophic levels ultimately depend on the efficiency of carbon utilization by bacteria and carbon fixation by algae, we hypothesize that rivers with high proportion of autochthonous DOC support higher overall biological productivity.

As pointed out by Williamson *et al.* (1999), to bring to attention the DOC axis in the nutrient-productivity paradigm provides a more robust conceptual framework to address the control of biological production in aquatic systems. This is even more valid in rivers influenced by human activities where nutrients are abundant and do not appear to limit biological productivity. In these cases, hydrology and DOC-mediated light attenuation seem to control phytoplankton biomass and photosynthesis.

Acknowledgements

This research was founded by a) the Natural Sciences Research Council of Canada (NSERC) and the Fonds pour la formation des Chercheurs et l'Aide à la Recherche (FCAR) funds to J.-J. Frenette and a FQRNT graduate fellowship to C. Martin. We are very grateful to J.-F. Lapierre, S. Thélème, P. Lavallée and D. M'Radamy for their invaluable help in the field and in the laboratory. We also thank M. Gosselin, A. Bertolo and C. Barnard for their comments on the manuscript, S. Campeau for data on the des Envies River watershed and S. Roy and M.T. Arts for shared equipment.

References

- APHA (1998) *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 20th edn. American Public Health Association, Washington, DC
- Azam, F., Fenchel, T., Field, J.G., Gray, J.S., Meyer-Reil, L.A., Thingstad, F. (1983) The ecological role of water-column microbes in the sea. *Marine Ecology Progress Series*, **10**, 257-263.
- Babin, M., Morel, A., Gagnon, R. (1994) An incubator designed for extensive and sensitive measurements of phytoplankton photosynthetic parameters. *Limnology and Oceanography*, **39**, 694-702.
- Baines, S.B. & Pace, M.L. (1991) The production of dissolved organic matter by phytoplankton and its importance to bacteria: Patterns across marine and freshwater systems. *Limnology and Oceanography*, **36**, 1078-1090.
- Basu, B.K. & Pick, F.R. (1995) Longitudinal and seasonal development of planktonic chlorophyll *a* in the Rideau River, Ontario. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **52**, 804-815.
- Basu, B.K. & Pick, F.R. (1996) Factors regulating phytoplankton and zooplankton biomass in temperate rivers. *Limnology and Oceanography*, **41**, 1572-1577.
- Basu, B.K. & Pick, F.R. (1997) Factors related to bacterial and protozoan abundance in temperate rivers. *Aquatic Microbial Ecology*, **12**, 123-129.
- Belzile, C., Gibson, J.A.E., Vincent, W.F. (2002) Colored dissolved organic matter and dissolved organic carbon exclusion from lake ice: Implications for irradiance transmission and carbon cycling. *Limnology and Oceanography*, **47**, 1283-1293.
- Berman-Frank, I. & Dubinsky, Z. (1999) Balanced growth in aquatic plants: myth or reality? *BioScience*, **49**, 29-37.
- Bjørnsen, P.K. (1988) Phytoplankton exudation of organic matter: Why do healthy cells do it? *Limnology and Oceanography*, **33**, 151-154.
- Blough, N.V. & Del Vecchio, R. (2002) Chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in the coastal environment. In: *Biogeochemistry of marine dissolved organic matter* (Eds Hansell, D. & Carlson, C.), pp. 509-546, Academic Press, San Diego.
- Campeau, S., Lacroix, A., Brien, M. & Boissonneault, Y. (2005) *Hydrographie et hydrologie du bassin versant de la rivière des Envies*. Rapport déposé au ministère de l'Environnement (en préparation). Section de géographie, Université du Québec à Trois-Rivières.
- Carlson, R.E. (1977) A trophic state index for lakes. *Limnology and Oceanography*, **22**,

361-369.

- Carpenter, S.R., Cole, J.J., Kitchell, J.F., Pace, M.L. (1998) Impact of dissolved organic carbon, phosphorus, and grazing on phytoplankton biomass and production in experimental lakes. *Limnology and Oceanography*, **43**, 73-80.
- Cole, J.J., Findlay, S., Pace, M.L. (1988) Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems: A cross-system overview. *Marine Ecology Progress Series*, **43**, 1-10.
- Cole, J.J., Likens, G.E., Strayer, D.L. (1982) Photosynthetically produced dissolved organic carbon: an important carbon source for planktonic bacteria. *Limnology and Oceanography*, **27**, 1080-1090.
- Descy, J.-P., Leporcq, B., Viroux, L., François, C., Servais, P. (2002) Phytoplankton production, exudation and bacterial reassimilation in the River Meuse (Belgium). *Journal of Plankton Research*, **24**, 161-166.
- Dillon, P.J. & Riegler, F.H. (1974) The phosphorus-chlorophyll relationship in lakes. *Limnology and Oceanography*, **19**, 767-773.
- Dodds, W.K., Jones, J.R., Welch, E.B. (1998) Suggested classification of stream trophic state: distributions of temperate streams types by chlorophyll, total nitrogen, and phosphorus. *Water Research*, **32**, 1455-1462.
- Feuillade, M., Dufour, P., Feuillade, J. (1988) Organic carbon release by phytoplankton and bacterial assimilation. *Schweizerische Zeitschrift fuer Hydrologie*, **50**, 115-135.
- Findlay, S. E. G. & Sinsabaugh, R. L. (2003) *Aquatic ecosystems: Interactivity of dissolved organic matter*, Academic Press, California, USA, 512 p.
- Francko, D.A. & Heath, R.T. (1982) UV-sensitive complex phosphorus: association with dissolved humic material and iron in a bog lake. *Limnology and Oceanography*, **27**, 564-569.
- Frenette, J.-J., Arts, M.T., Morin, J. (2003) Spectral gradients of downwelling light in a fluvial lake (Lake Saint-Pierre, St-Lawrence River). *Aquatic Ecology*, **37**, 77-85.
- Frenette, J.-J., Demers, S., Legendre, L., Dodson, J. (1993) Lack of agreement among models for estimating the photosynthetic parameters. *Limnology and Oceanography*, **38**, 679-687.
- Giroldo, D. & Vieira, A.A.H. (1999) Assimilation and release of ^{14}C in a tropical strain of *Cryptomonas obovata* (Cryptophyceae) exposed to several irradiances. *Journal of Plankton Research*, **21**, 1911-1921.
- Guilford, S.J. & Hecky, R.E. (2000) Total nitrogen, total phosphorus, and nutrient limitation in lakes and oceans: Is there a common relationship? *Limnology and Oceanography*, **45**, 1213-1223.

- JGOFS (1996) *Protocols for the Joint Global Ocean Flux Study (JGOFS) Core Measurements, Report No. 19. Scientific Committee on Oceanic Research*, International Council of Scientific Union, Bergen, 210 p.
- Keller, A.A. (1988) An empirical model of primary productivity (^{14}C) using mesocosm data along a nutrient gradient. *Journal of Plankton Research*, **10**, 813-834.
- Kirchman, D.L. (1993) Leucine incorporation as a measure of biomass production by heterotrophic bacteria. In: *Handbook of methods in aquatic microbial ecology* (Eds Kemp, P. F., Sherr, B. F., Sherr, E. B., Cole, J. J.), pp. 509-512, Lewis Publishers, USA.
- Kirchman, D.L. (2003) The contribution of monomers and other low-molecular weight compounds to the flux of dissolved organic matter in aquatic ecosystems. In: *Aquatic ecosystems: Interactivity of dissolved organic matter* (Eds Findlay, S. E. G. & Sinsabaugh, R. L.), pp. 218-243, Academic Press, California, USA.
- Kirk, J. T. O. (1994) *Light and photosynthesis in aquatic ecosystems*, Cambridge University Press, Cambridge, UK, 509 p.
- Kortelainen, P., Mattsson, T., Laubel, A., Evans, E., Cauwet, G., Råike, A. (2004) Sources of dissolved organic matter from land. In: *Dissolved organic matter (DOM) in aquatic environment: A study of european catchments and coastal waters* (Eds Sndergaard, M. & Thomas, D. N.), pp. The Domaine project, Denmark.
- Lancelot, C. (1979) Gross excretion rates of natural marine phytoplankton and heterotrophic uptake of excreted products in the southern North Sea, as determined by short-term kinetics. *Marine Ecology Progress Series*, **1**, 179-186.
- Laurion, I., Ventura, M., Catalan, J., Psenner, R., Sommaruga, R. (2000) Attenuation of ultraviolet radiation in mountain lakes: Factors controlling the among- and within-lake variability. *Limnology and Oceanography*, **45**, 1274-1288.
- Lean, D.R.S. & Burnison, B.K. (1979) An evaluation of errors in the ^{14}C method of primary production measurement. *Limnology and Oceanography*, **24**, 917-928.
- Lee, D.-Y. & Rhee, G.-Y. (1999) Kinetics of growth and death in *Anabaena flos-aquae* (Cyanobacteria) under light limitation and supersaturation. *Journal of Phycology*, **35**, 700-709.
- Lignell, R. (1990) Excretion of organic carbon by phytoplankton: its relation to algal biomass, primary productivity and bacterial secondary productivity in the Baltic Sea. *Marine Ecology Progress Series*, **68**, 85-99.
- Marañón, E., Cermeño, P., Fernández, E., Rodríguez, J., Zabala, L. (2004) Significance and mechanisms of photosynthetic production of dissolved organic carbon in a coastal eutrophic ecosystem. *Limnology and Oceanography*, **49**, 1652-1666.

- Marañón, E. & González, N. (1997) Primary production, calcification and macromolecular synthesis in a bloom of the coccolithophore *Emiliania huxleyi* in the North Sea. *Marine Ecology Progress Series*, **157**, 61-77.
- Markager, S. & Vincent, W.F. (2000) Spectral light attenuation and the absorption of UV and blue light in natural waters. *Limnology and Oceanography*, **45**, 642-650.
- Maske, H. & García-Mendoza, E. (1994) Adsorption of dissolved organic matter to the inorganic filter substrate and its implication for ^{14}C uptake measurements. *Applied and Environmental Microbiology*, **60**, 3887-3889.
- McKnight, D.M., Boyer, E.W., Westerhoff, P.K., Doran, P.T., Kulbe, T., Andersen, D.T. (2001) Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. *Limnology and Oceanography*, **46**, 38-48.
- Mobed, J.J., Hemmingsen, S.L., Autry, J.L., McGown, L.B. (1996) Fluorescence characterization of IHSS humic substances: Total luminescence spectra with absorbance correction. *Environmental Science & Technology*, **30**, 3061-3065.
- Moran, M.A. & Zepp, R.G. (1997) Role of photoreactions in the formation of biologically labile compounds from dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography*, **42**, 1307-1316.
- Morán, X.A.G. & Estrada, M. (2001) Short-term variability of photosynthetic parameters and particulate and dissolved primary production in the alboran Sea (SW Mediterranean). *Marine Ecology Progress Series*, **212**, 53-67.
- Morán, X.A.G. & Estrada, M. (2002) Phytoplanktonic DOC and POC production in the Bransfield and Gerlache Straits as derived from kinetic experiments of ^{14}C incorporation. *Deep-Sea Research II*, **49**, 769-786.
- Morán, X.A.G., Estrada, M., Gasol, J.M., Pedrós-Alió (2002) Dissolved primary production and the strength of phytoplankton-bacterioplankton coupling in contrasting marine regions. *Microbial Ecology*, **4**, 217-223.
- Morin, J. & Bouchard, A. (2000) *Les bases de la modélisation du tronçon Montréal / Trois-Rivières*. Rapport scientifique SMC-Hydrométrie RS-100. Environnement Canada, Sainte-Foy, 56 p.
- Moss, B., Booker, I., Balls, H., Manson, K. (1989) Phytoplankton distribution in a temperate floodplain lake and river system. 1. Hydrology, nutrient sources and phytoplankton biomass. *Journal of Plankton Research*, **11**, 813-838.
- Myklestad, S. (1977) Production of carbohydrates by marine planktonic diatoms. II. Influence of the N/P ratio in growth medium on the assimilation ratio, growth rate, and production of cellular and extracellular carbohydrates by *Chaetoceros affinis* var. Willei (Gran) Hustedt and *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve. *Journal of Experimental*

- Marine Biology and Ecology*, **29**, 161-179.
- Nush, E.A. (1980) Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigments. *Arch. Hydrobiol. Beih Ergeb. Limnol.*, **14**, 14-36.
- Pace, M.L., del Giorgio, P., Fisher, D., Condon, R., Malcom, H. (2004) Estimates of bacterial production using the leucine incorporation method are influenced by differences in protein retention of microcentrifuge tubes. *Limnology and Oceanography: Methods*, **2**, 55-61.
- Platt, T., Gallegos, C.L., Harrison, W.G. (1980) Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton. *Journal of Marine Research*, **38**, 687-701.
- Puskaric, S. & Mortain-Bertrand, A. (2003) Physiology of diatom *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve photosynthetic extracellular release: evidence for a novel coupling between marine bacteria and phytoplankton. *Journal of Plankton Research*, **25**, 1227-1235.
- Reynolds, C.S. (1988) Potamoplankton: paradigms, paradoxes, prognoses. In: *Algae and the aquatic environment* (Eds Round, F. E. R.), pp. 285-311, Biopress Ltd., Bristol.
- Reynolds, C.S. (1995) River plankton: the paradigm regained. In: *The ecological basis for river management* (Eds Harper, D. M. & Fergusson, A. J. D.), pp. 161-174, Wiley, New York.
- Reynolds, C.S. & Descy, J.-P. (1996) The production, biomass and structure of phytoplankton in large rivers. *Archiv fur Hydrobiologia*, **13**, 161-187.
- Riley, E.T. & Prepas, E.E. (1985) Comparison of the phosphorus-chlorophyll relationships in mixed and stratified lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **42**, 831-835.
- Roux, R., Gosselin, M., Desrosiers, G., Nozais, C. (2002) Effects of reduced UV radiations on a microbenthic community during a microcosm experiment. *Marine Ecology Progress Series*, **225**, 29-43.
- Roy, S. (2000) Strategies for the minimisation of UV-induced damage. In: *The effects on UV radiation in the marine environment* (Eds De Mora, S., Demers, S., Vernet, M.), pp. 177-205, Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Smith, D.C. & Azam, F. (1992) A simple, economical method for measuring bacterial protein synthesis rates in seawater using ³H-leucine. *Marine Microbial Food Webs*, **6**, 107-114.
- Soballe, D.M. & Kimmel, B.L. (1987) A large-scale comparison of factors influencing phytoplankton abundance in rivers, lakes, and impoundments. *Ecology*, **68**, 1943-1954.

- Stabenau, E.R. & Zika, R.D. (2004) Correlation of the absorption coefficient with a reduction in mean mass for dissolved organic matter in southwest Florida river plumes. *Marine Chemistry*, **89**, 55-67.
- Stedmon, C.A. & Markager, S. (2001) The optics of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in the Greenland Sea: An algorithm for differentiation between marine and terrestrially derived organic matter. *Limnology and Oceanography*, **46**, 2087-2093.
- Stedmon, C.A., Markager, S., Kaas, H. (2000) Optical properties and signatures of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in Danish coastal waters. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **51**, 267-278.
- Steeman-Nielsen, E. (1952) The use of radioactive carbon (^{14}C) for measuring organic carbon production in the sea. *Journal du Conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer*, **18**, 117-140.
- Tranvik, L.J. (1990) Bacterioplankton growth on fractions of dissolved organic carbon of different molecular weights from humic and clear lakes. *Applied Environmental Microbiology*, **56**, 1672-1677.
- Webb, W.L., Newton, M., Starr, D. (1974) Carbon dioxide exchange of *Alnus rubra*: A mathematical model. *Oecologia*, **17**, 281-291.
- Wehr, J.D. & Descy, J.-P. (1998) Use of phytoplankton in large river management. *Journal of Phycology*, **34**, 741-749.
- Wetzel, R. G. (2001) *Limnology: lake and river ecosystems*, Academic Press, San Diego, 1006 p.
- Wetzel, R.G., Hatcher, P.G., Bianchi, T.S. (1995) Natural photolysis by ultraviolet irradiance of recalcitrant dissolved organic matter to simple substrates for rapid bacterial metabolism. *Limnology and Oceanography*, **40**, 1369-1380.
- Wiebe, W.J. & Smith, D.F. (1977) Direct measurement of dissolved organic carbon release by phytoplankton and incorporation by microheterotrophs. *Marine Biology*, **42**, 213-223.
- Williamson, C.E., Morris, D.P., Pace, M.L., Olson, O.G. (1999) Dissolved organic carbon and nutrients as regulators of lake ecosystems: Resurrection of a more integrated paradigm. *Limnology and Oceanography*, **44**, 795-803.
- Wood, A.M. & Van Valen, L.M. (1990) Paradox lost? On the release of energy-rich compounds by phytoplankton. *Marine Microbial Food Webs*, **4**, 103-116.
- Zlotnik, I. & Dubinsky, Z. (1989) The effect of light and temperature on DOC excretion by phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, **34**, 831-839.

Table 1 Characteristics of the sampled rivers and their watersheds.

River	Annual discharge (m ³ sec ⁻¹)	Water temperature (°C)	Chl <i>a</i> (µg L ⁻¹)	TP (µg L ⁻¹)	TN (mg L ⁻¹)	K _d PAR (m ⁻¹)	Beam C (m ⁻¹)	DOC (mg L ⁻¹)	aCDOM (m ⁻¹)	% auto (%)	Watershed	
											area (km ²)	agriculture (%)
4	0.4	18.6	9.19	65.23	0.82	3.3	7.3	10.3	28.8	7.2	11	41.6
9	0.8	23.9	2.33	16.01	0.30	1.1	1.5	5.6	8.4	21.7	19	9.1
11	13.2	18	3.52	31.06	0.74	3.5	9.6	7.8	21.2	9.2	17	10.3
14	3.2	19.1	1.97	7.9	0.28	3.2	1.7	7.6	19.4	9.4	74	0.1
19	0.9	22.3	23.42	43.26	0.99	1.7	5.1	5.6	4.3	30.6	32	29.7
Saint-François	209	23	4.2	15.18	0.71	1.9	7.5	7.7	12.0	21.1	8476	33.4
Yamaska	69	23.9	34.91	93.24	0.79	8.3	n/a	7.7	12.0	20.6	3628	56.1
Nicolet	43	24.1	16.14	37.09	0.66	2.9	13.3	6.1	8.7	19.5	3397	54.2
Saint-Maurice	730	22.3	2.75	11.79	0.42	1.9	2.0	6.9	15.9	24.3	42730	0.6
Du Loup	23	22.6	2.84	85.13	1.49	6.9	n/a	5.6	12.9	15.5	1425	5.4
Maskinongé	26	22.7	1.85	30.43	0.57	2.4	7.0	7.6	18.2	12.6	1036	12.0
LSP UN	□	22.7	2.32	8.67	0.26	0.8	1.9	4.3	4.9	27.1	□	□
LSP US	§	24.5	1.41	12.13	0.53	1.1	1.4	6.0	8.8	21.3	§	§
LSP DN	□	23.7	3.52	24.61	0.48	1.0	2.9	4.6	5.5	19.4	□	□
LSP DS	§	22.7	2.29	29.25	0.45	2.4	7.5	6.9	11.1	19.3	§	§

§ Stations located in the Saint-François River mass of lake Saint-Pierre; refer to the characteristics of the Saint-François River in the Table.

□ Stations located in the Ottawa River mass of lake Saint-Pierre; discharge, watershed area and land use could not be obtained.

Table 2 Summary of the significant linear relationships amongst the dependent and independent variables. Eq. = equation number in the text; r^2 = coefficient of determination; p = probability of the slope = 0. Standard error of the regression slopes is given as (\pm SE).

Equations	Eq.	r^2	n	p
$\log \text{Chl } a = 0.81 (\pm 0.26) \log \text{TP} - 0.52$	1	0.42	15	< 0.01
$\log P_{\max \text{ POC}} = 1.40 (\pm 0.30) \log \text{Chl } a + 0.86$	2	0.63	15	< 0.001
$\log P_{\max \text{ EOC}} = 0.43 (\pm 0.17) \log \text{Chl } a + 0.19$	3	0.33	15	< 0.05
$\log P_{\max \text{ POC}} = -0.54 (\pm 0.23) \log a\text{CDOM} + 3.49$	4	0.31	14	< 0.05
$\log P_{\text{EOC}} = 0.31 (\pm 0.01) \log P_{\text{POC}} + 0.0094$	5	0.61	276	< 0.0001
$\log P_{\max \text{ EOC}} = 0.35 (\pm 0.07) \log \alpha + 0.67$	6	0.68	14	< 0.001
$S = 0.0008 (\pm 0.0003) \log P_{\max \text{ POC}} + 0.0162$	7	0.39	15	< 0.01
$\% \text{ auto} = 5.11 (\pm 1.75) \log P_{\max \text{ POC}} + 10.67$	8	0.41	14	< 0.01
$\log \text{BP} = 286.3 (\pm 132.9) S - 3.16$	9	0.31	13	< 0.05
$\log \text{BP/DOC} = 322.7 (\pm 133.6) S - 4.60$	10	0.35	13	< 0.05
$\log \text{BP} = 1.15 (\pm 0.39) \log P_{\max \text{ EOC}} + 1.42$	11	0.49	11	< 0.05

Table 3 Descriptive statistics of the different photosynthetic parameters calculated from production (P) and Chl *a*-normalized production (P^b) rates. Descriptive statistics of percent extracellular release at the light saturation index (PER at E_k) are also presented. P are expressed in $\mu\text{g C L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; P^b in $\mu\text{g C } (\mu\text{g Chl } a)^{-1} \text{ h}^{-1}$; light limited slope of the P vs E curves (α) in $\mu\text{g C L}^{-1} \text{ h}^{-1} (\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ sec}^{-1})^{-1}$; Chl *a*-normalized light limited slope of the P vs E curves (α^b) in $\mu\text{g C } (\mu\text{g Chl } a)^{-1} \text{ h}^{-1} (\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ sec}^{-1})^{-1}$; E_k in $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$; and PER at E_k in %.

Variable	Minimum	Mean	Maximum	SD
P _{max} POC	2.09	177.18	783.94	263.02
α_{POC}	0.05	0.87	3.41	1.23
P ^b _{max} POC	1.06	19.96	51.11	15.43
α^b_{POC}	0.02	0.10	0.19	0.06
E _k POC	42.35	184.23	299.71	80.06
P _{max} EOC	0.57	3.70	11.60	2.67
P ^b _{max} EOC	0.13	0.91	3.11	0.75
PER at E _k	0.80	11.57	39.00	12.02

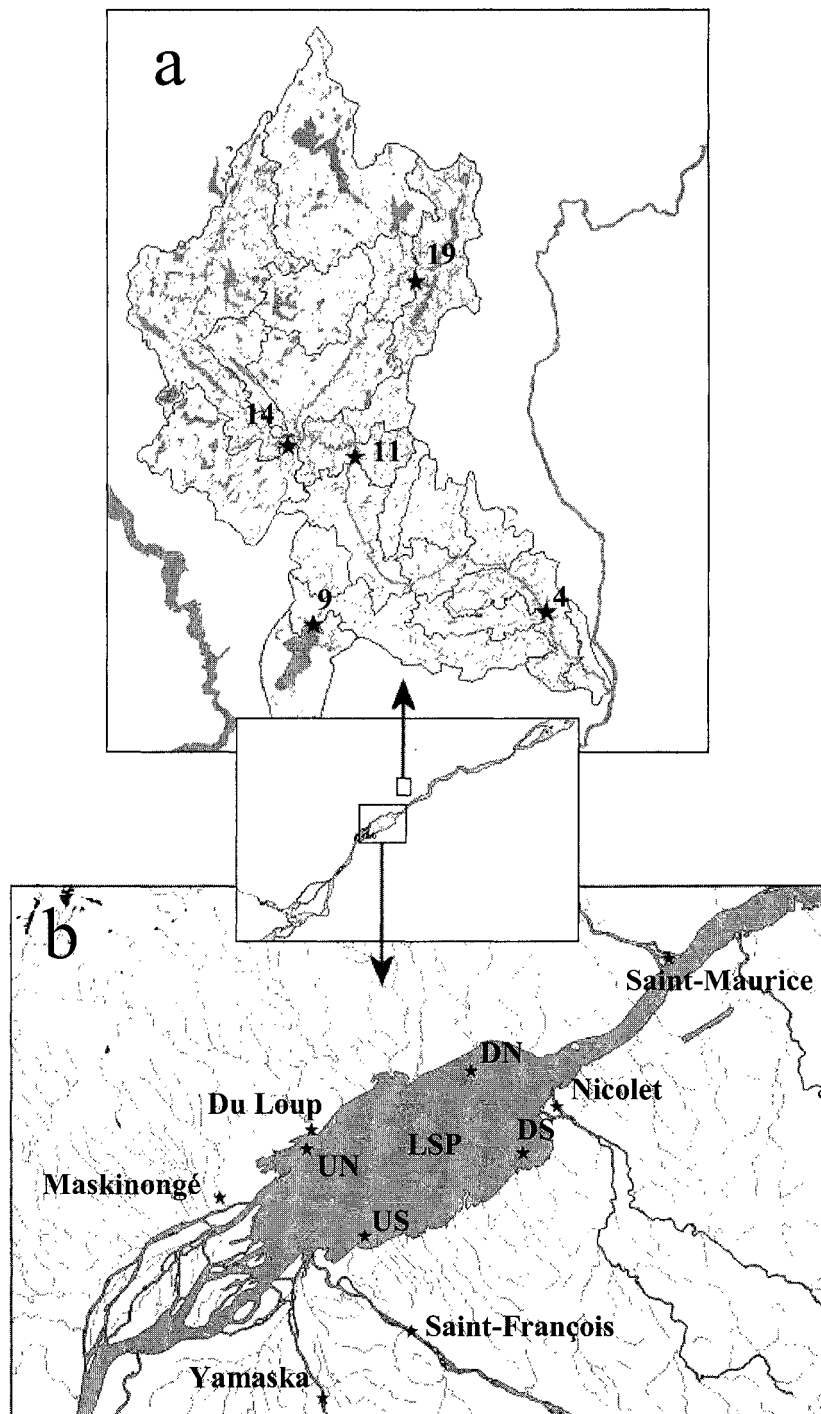


Figure 1 Map of the a) des Envies River watershed and its tributaries, and the b) fluvial Lake Saint-Pierre showing the geographical position of the sampling stations.

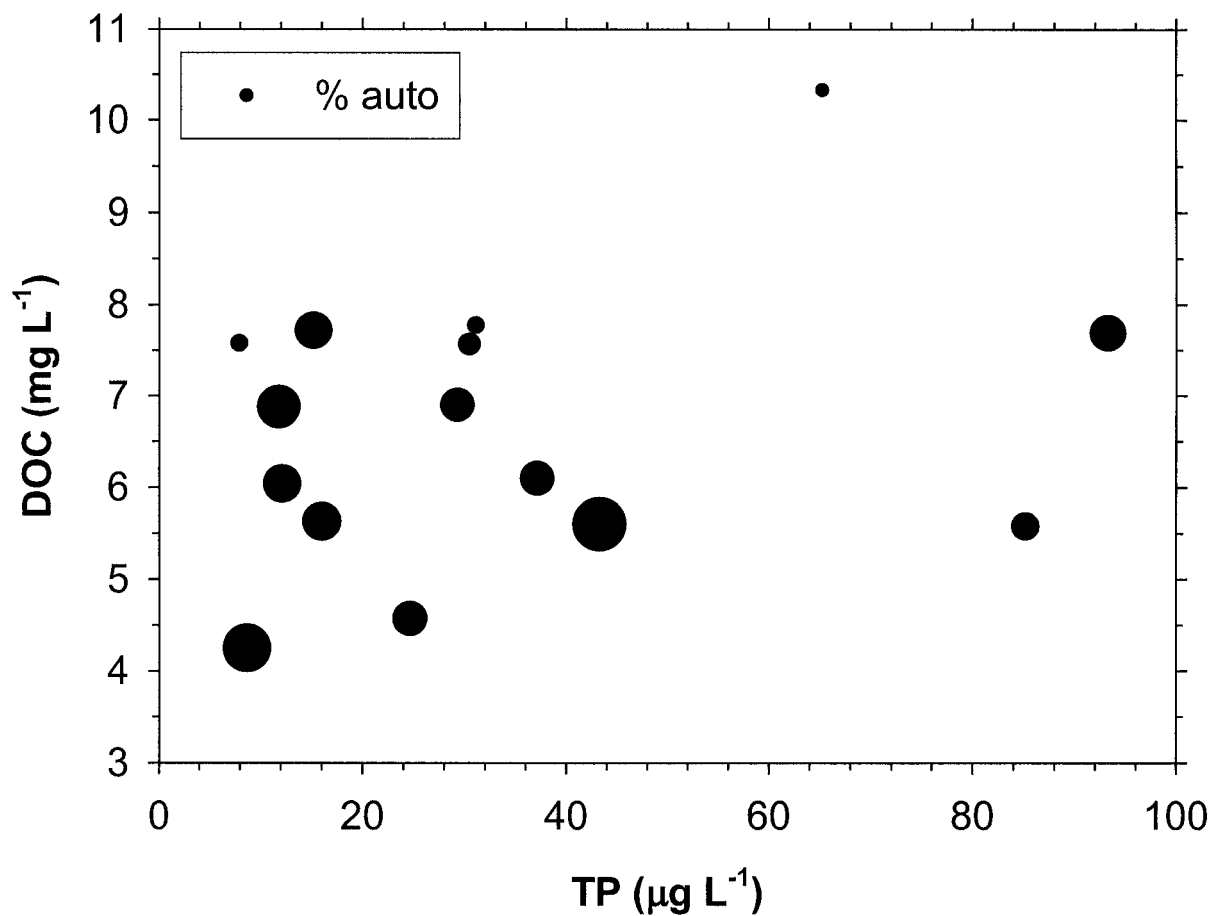


Figure 2 Scatter plot showing the lack of relationship between total phosphorus (TP) concentration, dissolved organic carbon (DOC) concentration and the proportion of autochthonous-like DOC (% auto). Increasing bubble size represent increasing % auto.

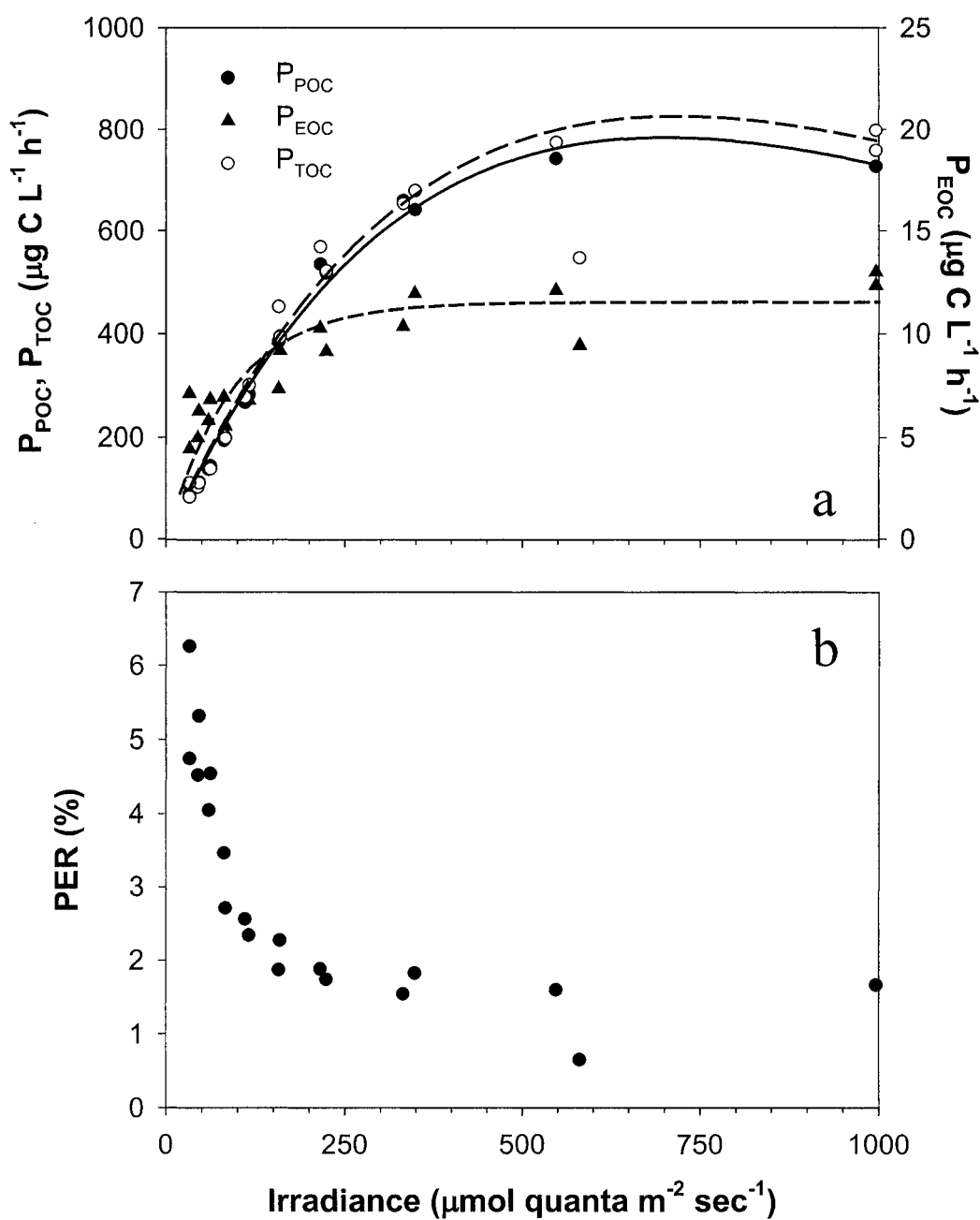


Figure 3 Representative P vs E curves from the Nicolet river showing a) total (P_{TOC} ; clear circles and medium dashed line), particulate (P_{POC} ; filled circles and solid line) and extracellular (P_{EOC} ; filled triangles and short dashed line) production rates, and b) the resulting percent extracellular release (PER).

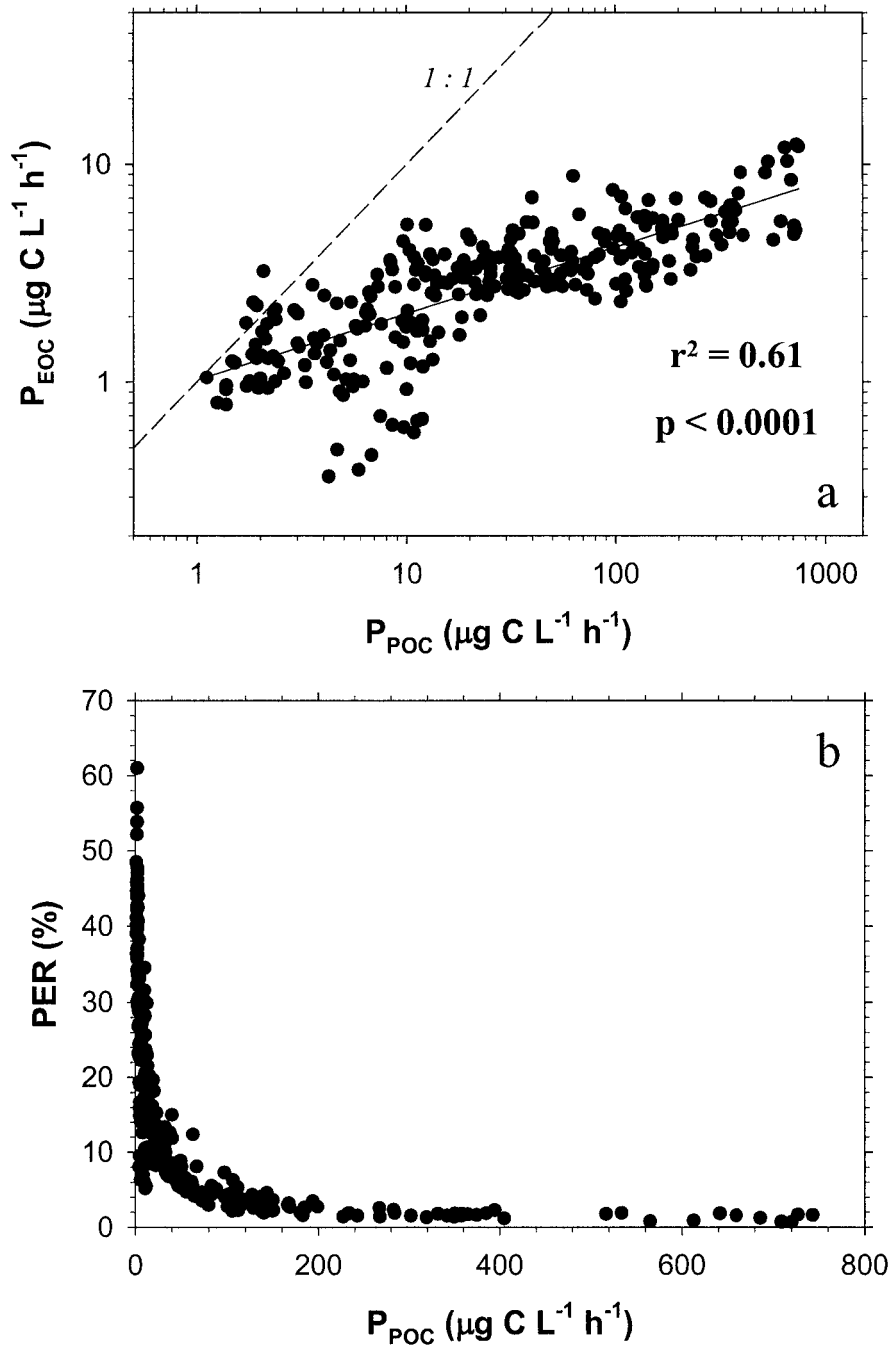


Figure 4 Relationship between a) extracellular (P_{EOC}) and particulate (P_{POC}) production rates for all experiments, including the 1:1 line, and b) the percent extracellular release (PER) and P_{POC} for all experiments.

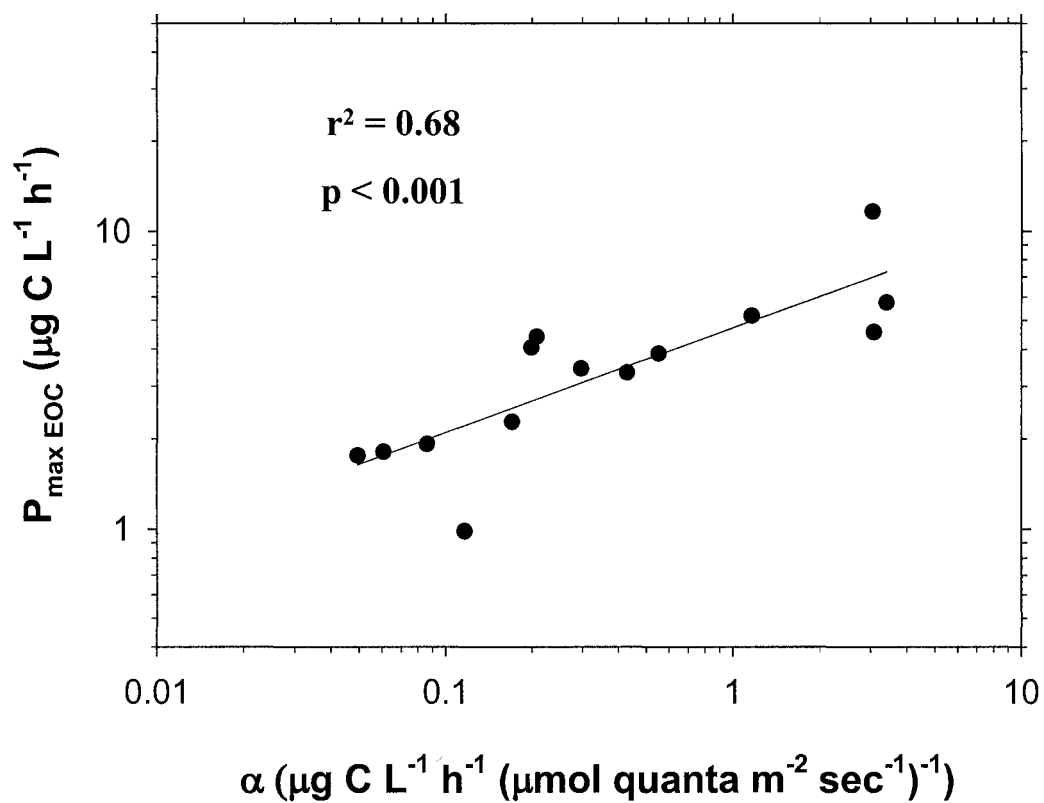


Figure 5 Relationship between the maximum release rate of extracellular organic carbon ($P_{\max \text{ EOC}}$) by phytoplankton and the light-limited slope of the P vs E curve (α).

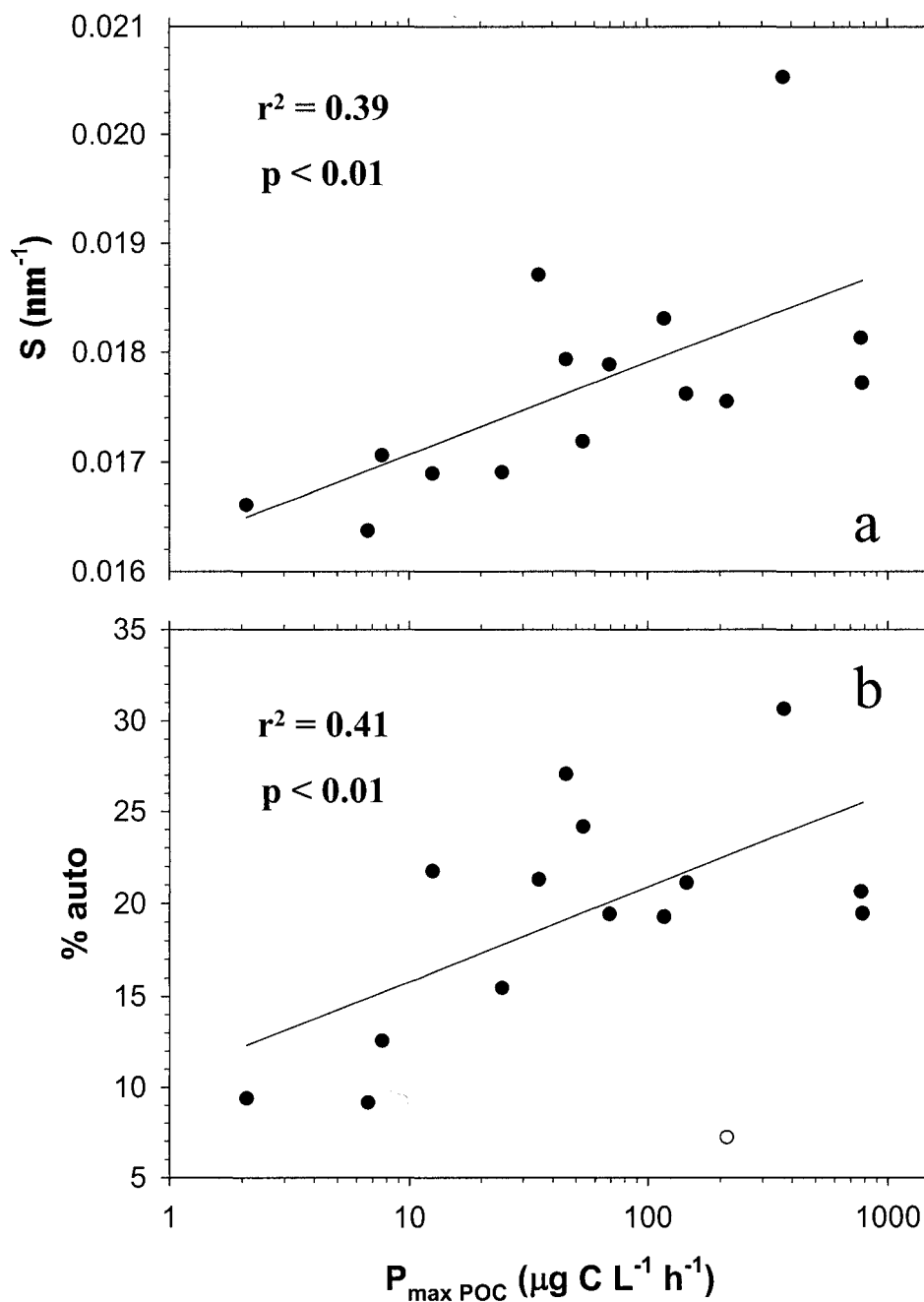


Figure 6 Relationship between the maximum carbon fixation rate of phytoplankton ($P_{\max \text{ POC}}$) and a) the CDOM spectral slope coefficient (S), and b) the percent of fluorescence related to autochthonous-like DOC (% auto). High values of S and % auto indicate higher proportion of autochthonous-like molecules in the sample.

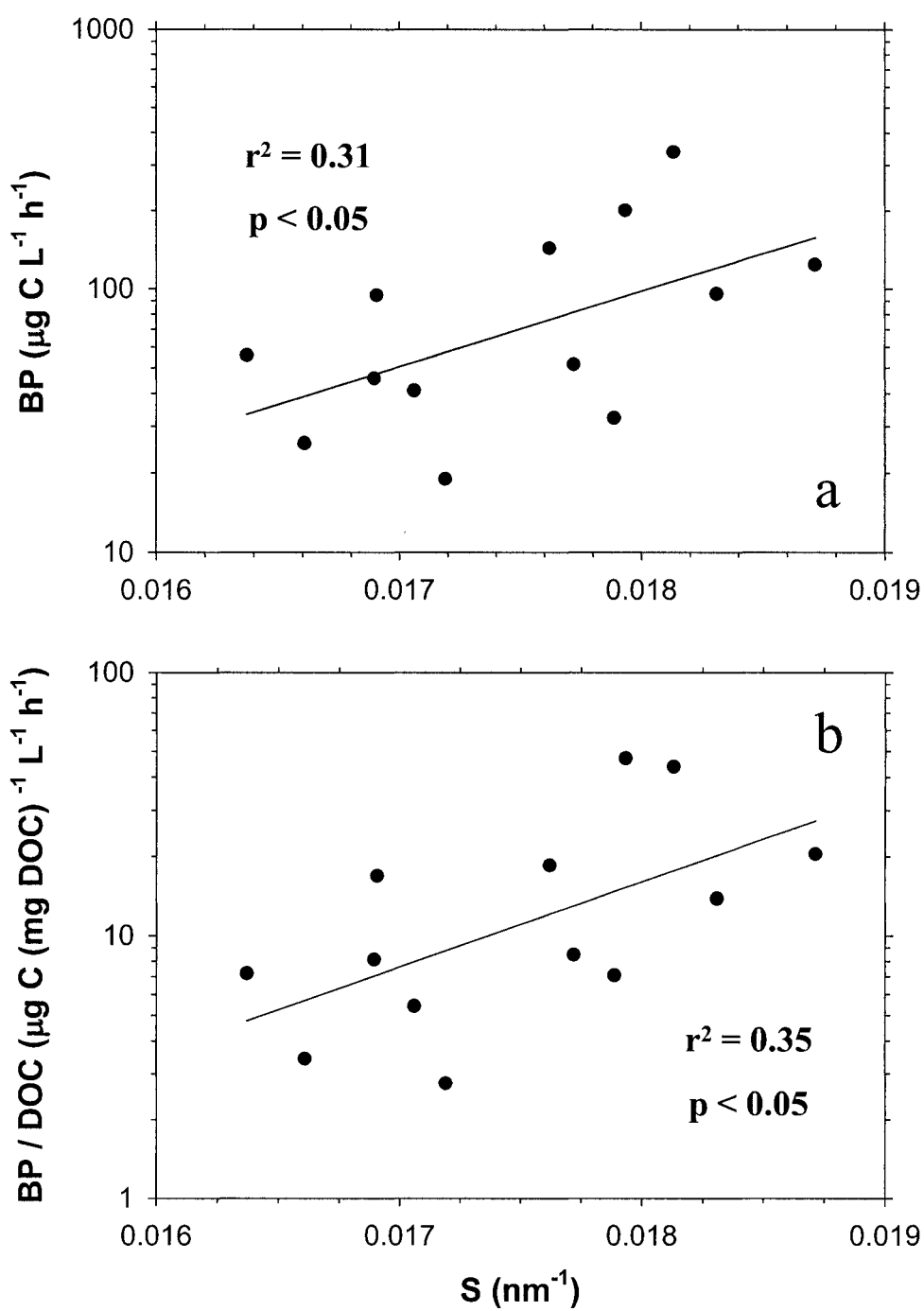


Figure 7 Relationship between a) bacterial production (BP) and the CDOM spectral slope coefficient (S), and b) the DOC-normalized bacterial production (BP/DOC) and S. High values of S indicate higher proportion of autochthonous-like molecules in the sample.

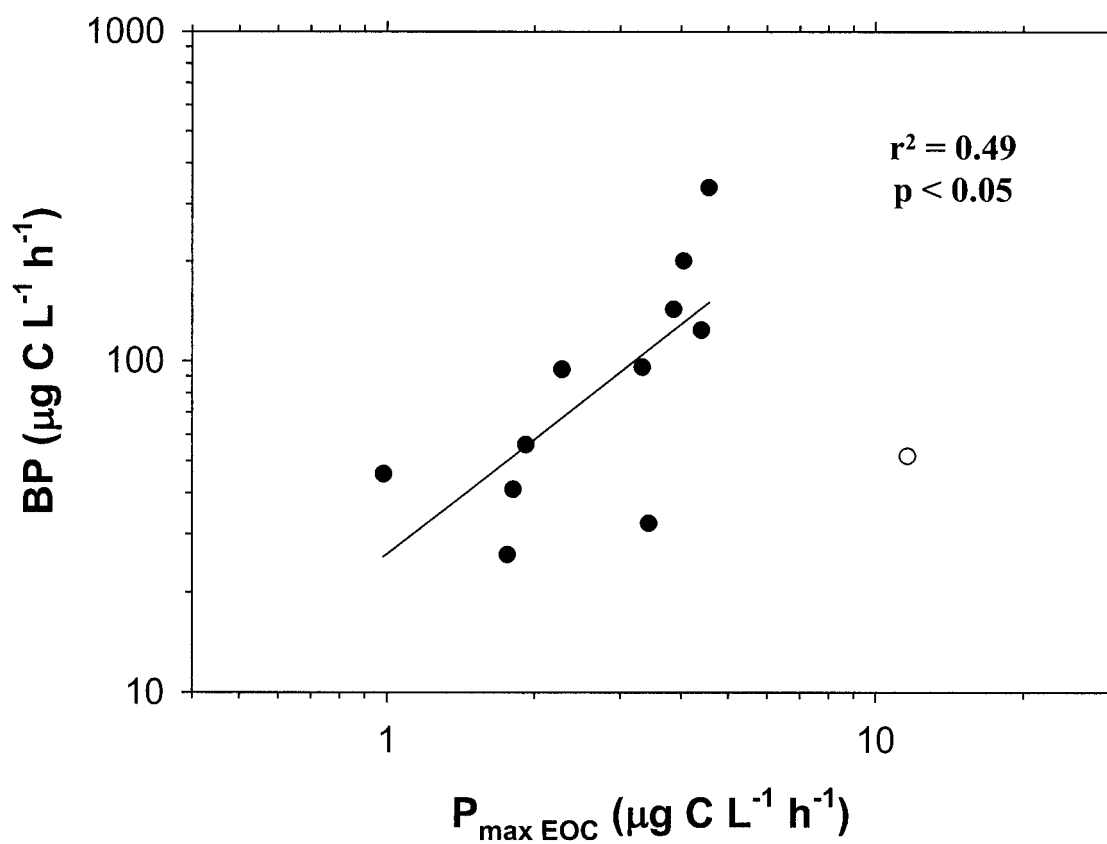


Figure 8 Relationship between bacterial production (BP) and the maximal release of EOC ($P_{\text{max EOC}}$) by phytoplankton.

ANNEXE I

Freshwater Biology submission guidelines

The text should be typed on one side of the paper, double spaced, with ample margins.

(a) *Title page.* This should include the title, list of authors names, institute or laboratory of origin, name, postal address and email address of the author to whom proofs should be sent, an abbreviated title for use as a running head line and five keywords, which should be relevant for literature searching and each normally comprising not more than two words.

(b) *Summary.* All papers should include a summary, in short numbered paragraphs, limited to about 3% of the length of the text. This should provide a concise statement of the scope of the work and its principal findings and be fully intelligible without reference to the main text.

(c) *Introduction.* This should contain a clear statement of the reason for doing the work, outlining essential background information but should not include either the results or conclusions.

(d) *Methods.* This should be concise but provide sufficient details to allow the work to be repeated. Suppliers of materials should be named and their location (town, state/county, country) included.

(e) *Results.* This should not include material appropriate to the Discussion.

(f) *Discussion.* This should highlight the significance of the results and place them in the context of other work.

(g) *Acknowledgments.*

(h) *References.*

(i) *Tables.*

(j) *Figure legends.*

(k) *Illustrations.* The original drawings should not be sent until the Editor requests them.

WELFARE AND LEGAL POLICY

Researchers must have proper regard for conservation and animal welfare considerations. Attention is drawn to the 'Guidelines for the Use of Animals in Research' published in each January issue of the journal *Animal Behaviour* since 1991. Any possible adverse consequences of the work for populations or individual organisms must be weighed against the possible gains in knowledge and its practical applications. Authors are required to sign a declaration that their work conforms to the legal requirements of the country in which it was carried out (see below), but editors may seek advice from referees on ethical matters and the final decision will rest with the editors.

Submission

Submitted manuscripts must be accompanied by the following signed declarations, either in the covering letter or on the Authors Declaration Form

- (i) that the work as submitted has not been published or accepted for publication, nor is being considered for publication elsewhere, either in whole or substantial part.
- (ii) that all authors and relevant institutions have read the submitted version of the manuscript and approve its submission.
- (iii) that all persons entitled to authorship have been so included.
- (iv) that the work conforms to the legal requirements of the country in which it was carried out, including those relating to conservation and welfare, and to the journals policy on these matters (see above).

Manuscripts must be in English and spelling should conform to the *Concise Oxford Dictionary of Current English*. Editors reserve the right to modify manuscripts that do not conform to scientific, technical, stylistic or grammatical standards, and minor alterations of this nature will normally be seen by authors only at the proof stage.

AUTHOR MATERIAL ARCHIVE POLICY

Please note that unless specifically requested, Blackwell Publishing will dispose of all hardcopy or electronic material submitted two months after publication. If you require the return of any material submitted, please inform the editorial office or production editor as soon as possible if you have not yet done so.

SCIENTIFIC NAMES

The complete scientific name (genus, species and authority) should be cited for every organism when first mentioned except that the authority should not be given in the title or summary. Tables are often useful in collating specific names and, if used in this way, should be referred to early in the text. Subsequent to its first appearance in the text, the generic name may be abbreviated to an initial except where intervening references to other genera would cause confusion.

Common names of organisms, if used, must be accompanied by the correct scientific name on first mention. Latin names should be italicized.

ABBREVIATIONS AND UNITS

Full names with uncommon abbreviations must be given with the first mention; new abbreviations should be coined only for unwieldy names and should not be used at all unless the names occur frequently. In the title and summary unusual abbreviations should be identified, in the introduction and discussion they should be used sparingly. SI units are preferred. Contributors should consult the Royal Society pamphlet *Quantities, Units and Symbols* (1975) and the IBP pamphlet *Quantities Units and Symbols for IBP Synthesis* (1975).

TABLES, FIGURES AND ILLUSTRATIONS

Each table must be typed on a separate sheet, with a fully informative caption as a heading. Tables should be numbered consecutively with Arabic numerals. Column headings should be brief, with units of measurement in parentheses. Vertical lines should not be used to separate columns. Electronic tables should be provided in an editable format (.rtf or .doc). All illustrations (including photographs) are classified as figures and should be numbered consecutively.

Figures and their lettering/numbering should be suitable for 50% reduction and should be drawn or grouped so that on reduction they will fit within the type area (165 × 220 mm). Where parts of figures need to be identified, lower case letters should be used.

Authors are encouraged to submit artwork electronically where possible. Please save vector graphics (e.g. line artwork) in Encapsulated Postscript Format (EPS), and bitmap files (e.g. half-tones) in Tagged Image File Format (TIFF). Halftones should have a resolution of at least 300 d.p.i. and line drawings at least 800 d.p.i. Ideally, vector graphics that have been saved in metafile (.WMF) or pict (.PCT) format should be embedded within the body of the text file. Even when electronic material is available original drawings, good glossy prints or laser printed diagrams should also be provided for the printers in case the electronic file is unreadable. Please see our guidelines [here](#).

Any hand-drawn figures should be in Indian ink on good-quality drawing paper, strong tracing paper or feint-ruled graph paper, not bigger than A4 size.

Legends to figures should be typed in sequence on a separate sheet. In the full-text online edition of the journal, legends may be truncated in abbreviated links to the full screen version. Therefore the first 100 characters of any legend should inform the reader of key aspects of the figure.

Each table and figure should have the authors name and the number written on the back in pencil.

The approximate position of table and figures should be indicated in the margin of the typescript.

COLOUR ILLUSTRATIONS

It is the policy of Freshwater Biology for authors to pay the full cost for the reproduction of their colour artwork. The cost of colour printing in this Journal has recently gone down, with the first figure costing 150 GBP and all subsequent figures 50 GBP each. Therefore, please note that if there is colour artwork in your manuscript when it is accepted for publication, Blackwell Publishing require you to complete and return a colour work agreement form before your paper can be published. This form can be downloaded as a PDF* [here](#). If you are unable to download the form, please contact the Production Editor at: Production Editor – Freshwater Biology, Blackwell Publishing, 101 George Street, Edinburgh, EH2 3ES, UK and they will be able to email or FAX a form to you. Once completed, please return the form to the Production Editor at the above address.

Any article received by Blackwell Publishing with colour work will not be published until the form has been returned.

* To read PDF files, you must have Acrobat Reader installed on your computer. If you do not have this program, it is available as a free download from the following web address:

<http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>

REFERENCES

References should be made by giving the authors name with the year of publication in parentheses. When reference is made to a work by three authors all names should be given when cited for the first time and thereafter using only the first name and adding *et al.*; for four or more authors the first name followed by *et al.* should be used on all occasions. If several papers by the same author and from the same year are cited, a, b, c, etc., should be put after the year of publication. References should be listed in alphabetical order at the end of the paper in the following standard form:

Seddon B. (1972) Aquatic macrophytes as limnological indicators. *Freshwater Biology*, 2, 107-130.

Titles of journals should not be abbreviated. Unpublished material, except for PhD theses, should not be included among the references.